



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Medicina**

**Escuela Académico Profesional de Tecnología Médica**

**Frecuencia de anticuerpos IgG e IgM contra  
*Helicobacter pylori* en los sueros de pacientes que  
acuden a la Clínica Privada Suiza Lab en el periodo  
junio-julio 2015**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología  
Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

**AUTOR**

**Cesar JALIXTO ALATA**

**ASESOR**

**Carlos Raúl SEVILLA ANDRADE**

**Lima, Perú**

**2016**



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Jalixto C. Frecuencia de anticuerpos IgG e IgM contra *Helicobacter pylori* en los sueros de pacientes que acuden a la Clínica Privada Suiza Lab en el periodo junio-julio 2015 [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Académico Profesional de Tecnología Médica; 2016.

---

1404



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA



"Año de la Consolidación del Mar de Grau"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Conforme a lo estipulado en el Art. 45.2 y, Art. 100.13 de la Ley 30220. El Jurado de Sustentación de Tesis nombrado por el Director de la Escuela Académico Profesional de Tecnología Médica, conformado por los siguientes docentes:

Presidente: Lic. Elizabeth Irene Pareja Cuadros  
Miembros: Lic. Giuliana Mercedes Romero Barrenechea  
Lic. Esther Lilia Valencia Bazalar

Se reunieron en la ciudad de Lima, el día 24 de agosto de 2016, procediendo a evaluar la Sustentación de Tesis, titulado **"FRECUENCIA DE ANTICUERPOS IgG E IgM CONTRA Helicobacter pylori EN LOS SUEROS DE PACIENTES QUE ACUDEN A LA CLÍNICA PRIVADA SUIZA LAB EN EL PERIODO JUNIO-JULIO 2015"**, para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica en el Área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica del Bachiller:

**Cesar Jalixto Alata**

Habiendo obtenido el calificativo de:

.....14.....  
(en números)

.....CATORCE.....  
(en letras)

Que corresponde a la mención de: .....BUENO.....

Quedando conforme con lo antes expuesto, se disponen a firmar la presente Acta.

.....  
Presidente  
Lic. Elizabeth Irene Pareja Cuadros

.....  
Miembro  
Lic. Giuliana Mercedes Romero Barrenechea

.....  
Miembro  
Lic. Esther Lilia Valencia Bazalar

.....  
Asesor (a) de Tesis  
Lic. TM. Carlos Raúl Sevilla Andrade



**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**  
**(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)**

**Cesar Jalixto Alata**

Tesis presentado a la Facultad de Medicina de la  
Universidad Nacional Mayor de San Marcos para  
la obtención del Título Profesional de Licenciado  
en Tecnología Médica.

Área:  
Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

**Este trabajo fue realizado  
en la Sede Central de la  
Clínica Privada  
“Suiza Lab”**

***A Dios por ser mi fortaleza, iluminar  
mi camino y guiar mis pasos a lo largo  
de mi vida.***

***A mis amigos,  
por su apoyo incondicional y  
motivación para el realizamiento  
de mis metas.***

***A mi familia,  
por su constante guía y apoyo  
para el logro de mis metas.***

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Lic. Tecnólogo Médico Carlos Raúl Sevilla Andrade, Profesor Auxiliar del Departamento Académico de Microbiología Médica-UNMSM, por brindar amablemente su amistad, confianza y valiosa orientación durante todo el desarrollo de este trabajo, muy agradecido.

A la Dra. Claudia Gianoli Keller por su autorización y confianza en realizar este estudio en la Clínica Privada “Suiza Lab”, muy agradecido.

A mi amiga: Nora Luz Ccallo Morales por su apoyo incondicional, permanentes consejos y motivación para el logro de mis metas.

A mis amigos: Lic. Tecnólogo Médico Nilo Ramírez Manrique y Lic. Tecnólogo Médico Oscar Momediano Prieto por su valiosa amistad y constante apoyo en el centro de trabajo.



## ÍNDICE

	Pág.
1. DATOS GENERALES.....	1
2. CAPÍTULO I	
INTRODUCCIÓN.....	9
3. CAPÍTULO II	
MÉTODOS.....	23
4. CAPÍTULO III	
RESULTADOS.....	27
5. CAPÍTULO IV	
DISCUSIÓN.....	37
6. CAPÍTULO V	
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	41
7. CAPÍTULO VI	
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
8. CAPÍTULO VII	
ANEXOS.....	48

## RESUMEN

**OBJETIVO:** Determinar la frecuencia de anticuerpos IgG e IgM contra *Helicobacter pylori* en sueros de pacientes. **DISEÑO:** Estudio descriptivo, retrospectivo y transversal. **LUGAR:** Servicio de laboratorio clínico, área *Inmuno-Manual*, de la Clínica Privada “Suiza Lab”, entre el 1 de junio y 31 de julio de 2015, Lima, Perú. **MATERIAL Y MÉTODOS:** Se estudió 520 sueros de pacientes, entre 0 y 89 años, de los cuales 315 son mujeres y 205 varones, las cuales se recolectó sus resultados de la prueba de ELISA anti-*H. pylori*. La muestra de estudio fue agrupada de la siguiente forma: Grupo 1 conformado por los resultados de la prueba de ELISA IgG anti-*H. pylori* ( $n_1=137$ ), Grupo 2 conformado por los resultados de la prueba de ELISA IgM anti-*H. pylori* ( $n_2=215$ ) y Grupo 3 conformado por los resultados de las pruebas de ELISA IgG y ELISA IgM anti-*H. pylori* ( $n_3=168$ ). Para el examen serológico en el servicio de laboratorio clínico, se utilizó la prueba de ELISA para detección cuantitativa de IgG e IgM específica contra *H. pylori* (Serion ELISA Classic, SERION®Immunologics, Germany). **RESULTADOS:** La edad promedio del estudio fue  $39 \pm 18,7$  años y el 76,5% (398/520) fueron positivos para las pruebas de ELISA IgG o ELISA IgM. En los sueros de pacientes del Grupo 1, la frecuencia de anticuerpos IgG contra *H. pylori* detectados mediante la prueba ELISA IgG fue de 71,5% (98/137), en los sueros de pacientes del Grupo 2, la frecuencia de anticuerpos IgM contra *H. pylori* detectados mediante la prueba ELISA IgM fue de 68,8% (148/215) y en los sueros de pacientes del Grupo 3, la frecuencia de anticuerpos IgG e IgM contra *H. pylori* detectados mediante la prueba ELISA IgG y ELISA IgM fue de 55,3% (93/168). Se encontró relación estadísticamente significativa entre la frecuencia de anticuerpos IgM anti-*H. pylori* del Grupo 2 con el sexo ( $p=0,000$ ). **CONCLUSIONES:** La frecuencia de anticuerpos IgG e IgM contra *H. pylori* en los sueros de pacientes fue elevada; también se determinó que hay relación entre la frecuencia de anticuerpos IgM anti-*H. pylori* del Grupo 2 con el sexo.

**Palabras clave:** *Helicobacter pylori*, serología, ELISA IgG, ELISA IgM

## SUMMARY

**OBJECTIVE:** To determine the frequency of IgG and IgM antibodies against *Helicobacter pylori* in patient sera. **DESIGN:** A descriptive, retrospective and cross-sectional study. **PLACE:** clinical laboratory services, area *Immuno-Manual* of Private Clinic "Suiza Lab", between June 1 and July 31, 2015, Lima, Peru. **MATERIAL AND METHODS:** 520 sera of patients studied, between 0 and 89 years, of which 315 are women and 205 men, which results of the test of ELISA anti-*H. pylori* were collected. The study serums were grouped as follows: Group 1 comprised the results of the test of ELISA IgG anti-*H. pylori* ( $n_1=137$ ), Group 2 comprised the results of test of ELISA IgM anti-*H. pylori* ( $n_2=215$ ) and Group 3 comprised the results of test of ELISA IgG and test of ELISA IgM anti-*H. pylori* ( $n_3=168$ ). For serological examination in the clinical laboratory service, the test of ELISA was used for quantitative detection of specific IgG and IgM antibodies against *H. pylori* (ELISA Serion Classic, SERION®Immunologics, Germany). **RESULTS:** The mean age of the study was  $39 \pm 18,7$  years and 76.5% (398/520) were positive for ELISA IgG or ELISA IgM. In the sera of patients in Group 1, the frequency of IgG antibodies against *H. pylori* detected by ELISA IgG it was 71.5% (98/137), in the sera of patients in Group 2, the frequency of IgM antibodies against *H. pylori* detected by ELISA IgM was 68.8% (148/215) and in sera of patients in Group 3, the frequency of IgG and IgM antibodies against *H. pylori* detected by ELISA IgG and ELISA IgM was 55,3% (93/168). A statistically significant relationship was found between the frequency of IgM antibodies anti-*H. pylori* from Group 2 with sex ( $p=0,000$ ). **CONCLUSIONS:** The frequency of IgG and IgM antibodies against *H. pylori* in sera of patients was high; It was also determined that there is a relationship between the frequency of IgM antibodies anti-*H. pylori* from Group 2 with sex.

**KEYWORDS:** *Helicobacter pylori*, Serology, ELISA IgG, ELISA IgM

# **CAPÍTULO I**

## **INTRODUCCIÓN**

## INTRODUCCIÓN

El *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) fue aislado en 1983 por los investigadores Marshall y Warren, es un bacilo gramnegativo, curvado y microaerofílico que infecta al estómago humano, produciendo la génesis de la gastritis, úlcera péptica duodenal, úlcera péptica gástrica, cáncer gástrico y linfoma tipo MALT <sup>(1-5)</sup>. Por lo expuesto, el *H. pylori* fue clasificado como carcinógeno del grupo I <sup>(2-5)</sup>.

El *H. pylori* infecta aproximadamente al 60 % de la población mundial, y alrededor del 80% son asintomáticos <sup>(2,4,6)</sup>. Pese a las tasas elevadas de prevalencia a nivel mundial, se afirma que es más frecuente en países en vías de desarrollo que en los países desarrollados <sup>(4,5,6)</sup>, y el contacto con la bacteria se da en la niñez y en los países en desarrollo sucede en edades más tempranas <sup>(2,6)</sup>. En el Perú, se empleó la serología para determinar la prevalencia de infección en niños y según León, Recavarren y Ramírez encuentran que el 60% se encuentran infectados antes de los 10 años <sup>(7)</sup>.

La mayor transmisión de la infección se produce en la etapa temprana de la vida, principalmente de persona a persona y se produce dentro entorno familiar <sup>(8,9)</sup>; las vías de transmisión propuestas son la fecal-oral, oral-oral y gastro-oral <sup>(2,6,8)</sup>.

Las pruebas de diagnóstico se dividen en pruebas invasiva y no invasivas, y muchas de estas pruebas están disponibles, pero todas tienen algunas limitaciones en diferentes situaciones clínicas y sitios de laboratorio <sup>(10)</sup>. Actualmente, se recomienda la serología como prueba de screening inicial, posteriormente se realizará una confirmación adicional por histología y/o cultivo antes del tratamiento. Un diagnóstico preciso de la infección por *H. pylori* dependerá del esfuerzo e investigación de los laboratorios, gastroenterólogos y patólogos <sup>(11)</sup>.

En el Perú hay pocos estudios seroepidemiológicos que nos permitirían hallar la prevalencia de la población. La utilidad de las pruebas serológicas sería importante, ya que son de bajo costo, rápidas y tienen alta aceptabilidad de los pacientes; estas pruebas no se ven afectadas por el sangrado de las úlceras, atrofia gástrica, ni el uso de inhibidores de la bomba de protones o antibióticos, a comparación de la otras pruebas invasivas y no invasivas <sup>(12)</sup>; también la detección de los anticuerpos anti-*H. pylori* detectarían el pasada o presente adquisición de la bacteria <sup>(11)</sup>. Por esta razón, el estudio es importante para el aporte actual al conocimiento sobre la frecuencia de anticuerpos contra *H. pylori* en la población peruana.

## 1.1. ANTECEDENTES

Hasta la actualidad se ha realizado pocos trabajos de investigación relacionados con la frecuencia de anticuerpos contra *H. pylori* en el Perú.

A continuación se muestran algunos estudios relacionados al tema:

- Espinoza (1997), Perú, determinó la prevalencia del *H. pylori* en niños menores de 5 años como agente causal de enfermedades gástricas y su identificación mediante pruebas inmunológicas. Se estudiaron 100 niños cuyas edades oscilaban entre los 0-5 años de ambos sexos del AA.HH. Pampas del distrito de San Juan de Miraflores y se encontró una prevalencia de anticuerpos IgG contra *H. pylori* de 73% de seropositividad, de los casos positivos el 54.8% fue de sexo femenino y el 45.2% del sexo masculino. En los reservorios de fuente de agua, en el estado nutricional, así como en el sexo y la edad no se observaron una diferencia estadística significativa para ser considerados como factores de riesgo de infección <sup>(13)</sup>.
- Álvarez *et al.* (2002), Venezuela, determinaron la frecuencia de anticuerpos IgG anti-*H. pylori* en niños y adolescentes que acudieron a la consulta externa de pediatría y adolescencia de ambulatorio “la Carucieña”, durante el lapso octubre 2001-marzo 2002. La muestra estuvo conformada por 90 pacientes en edades de 2 a 19 años; se encontró una frecuencia de 56,67%, afectando las edades de 11 a 16 años en el 100% de los casos, también la infección predominó en los estratos socioeconómicos III (31,37%) y IV (43,13%). Por ende, se concluyó que la infección está directamente relacionada con la edad y el nivel socioeconómico, por lo que puede ser considerada como un problema de salud pública <sup>(14)</sup>.
- Laszewicz *et al.* (2002), Polonia, determinaron la seroprevalencia y la asociación socioeconómica y las características sociodemográficas que influyen en la infección del *H. pylori* en niños y adultos. Se evaluó en los años 2002 y 2003 a 6565 participantes: 3307 adultos (50,37%) y 3258 niños (49,63%). Se encontró una prevalencia de anticuerpos IgG de 58.29% (3827/6565), de los cuales, en los adultos fue de 84,19% (2784/3307) y en los niños fue de 32,01% (1043/3258). También se determinó que la prevalencia de la infección de *H. pylori* podría estar influida por la situación socioeconómica, sanitaria, condiciones de higiene y la educación de la población <sup>(15)</sup>.
- Hadad *et al.* (2003), Perú, determinaron la prevalencia de serología positiva para *H. pylori* en trabajadores de una refinería de zinc. Se incluyó en el estudio a 92 trabajadores que acudían a su control pre-vacacional para lo cual se obtuvo que el 61,96% (57/92) presentaron serología positiva para la prueba de ELISA IgG contra *H. pylori* <sup>(7)</sup>.
- Dattoli *et al.* (2005), Brasil, encontraron que la seroprevalencia de anticuerpos IgG de *H. pylori* fue de 28,7% en una población de 1104 niños

de 4 a 11 años de edad y los factores de riesgo asociados a la infección fueron los siguientes: vivir en un entorno lleno de gente, condiciones sanitarias/ habitabilidad deficientes <sup>(16)</sup>.

- Alvarado (2008), México, encontró que la prevalencia de anticuerpos IgG de *H. pylori* fue de 52,2% en una población de 343 mujeres embarazadas que viven en zonas rurales del Estado de Durango <sup>(17)</sup>.
- Alvitres (2008), Perú, determinó que la prevalencia de anticuerpos IgG de *H. pylori* fue de 60,86% en una población de 184 niños de 3 a 14 años de edad. El grupo etario de 9 a 10 años tuvo la mayor prevalencia de infección de *H. pylori* con un porcentaje de 78,3% <sup>(18)</sup>.
- Lange *et al.* (2008), Guatemala, encontraron que la frecuencia de anticuerpos de IgG e IgM anti-*H. pylori* fue de 39,76% y 4,82% respectivamente, en 332 participantes del estudio conformado por estudiantes, personal docente y administrativo de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia; tampoco se encontró relación entre la frecuencia de anticuerpos con la sintomatología de malestar gastrointestinal <sup>(19)</sup>.
- Cifuentes *et al.* (2012), Guatemala, encontraron que la frecuencia de anticuerpos de IgG anti-*H. pylori* en 151 expendedores de alimentos de la ciudad universitaria, zona 12 fue de 72,19% (109/151). El 69,81% del género femenino y el 77,77 % del género masculino fueron positivos. No se encontró asociación con la presencia de anticuerpos IgG anti-*H. pylori* y los síntomas, tampoco con los factores de riesgo como hacinamiento, nivel de salario, acceso a agua potable y a servicios sanitarios <sup>(20)</sup>.
- Elhag y Omer (2012), Sudán, encontraron que la frecuencia de anticuerpos de IgG e IgM anti-*H. pylori* fue de 63,3% y 21,1% respectivamente, y 16,7% fueron positivos para ambos, en 90 pacientes con síntomas gastrointestinales del Hospital de Enseñanza de Khartoum. Se determinó que las mujeres fueron más afectadas que los varones, también se observó una alta frecuencia de resultados positivos entre los grupos de edad de 15-30 años, y no se encontró correlación significativa entre la edad, el género, la susceptibilidad genética y la presencia de anticuerpos anti-*H. pylori* <sup>(21)</sup>.
- Kim *et al.* (2013), Corea, determinaron la seroprevalencia de la infección de *H. pylori* en el personal de salud. Evaluaron a enfermeras (362), médicos (110), personal de salud sin contacto con el paciente como control médico (179) y participantes provenientes de otro hospital como controles no hospitalarios (359); y hallaron que la tasa general de seroprevalencia fue de 38,7% (391/1010) y la edad media fue de  $36,9 \pm 11,4$  años. La seroprevalencia de las enfermeras fue de 29,8%, de los médicos 34,5%, del control médico 30,7% y del control no hospitalario 52,9%; la ocupación del personal de salud no se asoció con la infección del *H. pylori* y la seroprevalencia general que se encontró fue baja, posiblemente debido al

mejor estatus socioeconómico y la política de higiene hospitalaria en Corea <sup>(22)</sup>.

## 1.2. GENERALIDADES

El *H. pylori* pertenece al género *Helicobacter*, siendo su localización preferente el antro pilórico, y de allí su denominación de *H. pylori*. Es un bacilo gramnegativo curvado, móvil, microaerófilo y flagelado. Su crecimiento se da a temperaturas de 37°C y requiere 3 días para observar su crecimiento en medio sólido <sup>(14)</sup>.

El *H. pylori* reacciona con las pruebas de oxidasa, catalasa y ureasa, siendo esta última fundamental para su identificación. Esta bacteria presenta grandes variaciones en el genotipo, y una de las principales variaciones entre las cepas radica en la presencia de una región discreta del ADN donde se encuentran genes asociados con la virulencia (siendo *cagA* el más importante) y otros que codifican en su mayor parte para la formación de un sistema de secreción tipo IV (T4SS). Esta región, denominada isla de patogenicidad (PAI), tiene una longitud de 37 000 pb aproximadamente. La presencia del PAI ha permitido clasificar a las cepas de *H. pylori* en dos tipos: las que poseen la isla (cagPAI+) asociadas con procesos infecciosos graves y las que no poseen la isla (cagPAI-) que se asocian con infecciones leves a moderadas en pacientes asintomáticos <sup>(23)</sup>.

### 1.2.1. Epidemiología

El *H. pylori* es una bacteria ampliamente distribuida que ha infectado a los seres humanos hace 58 000 años; se calcula que aproximadamente el 60% de la población mundial se encuentra colonizada por esta bacteria que se adquiere a edades tempranas de la vida, presentándose las mayores tasas de infección en poblaciones en vías de desarrollo que en las poblaciones de países industrializados (80-90% *versus* 10-50%) <sup>(4)</sup>. Actualmente la prevalencia observada en los países latinoamericanos es de 75-83% <sup>(24)</sup>. Sin embargo, la incidencia de la infección del *H. pylori* variara según la edad, la condición socioeconómica en la niñez, el nivel de educación, el medio ambiente, la ocupación y la región geográfica en que vive <sup>(5)</sup>.

En el Perú, la prevalencia de *H. pylori* se encuentra alrededor en el 60% de la población, oscilando entre 30 a 90% <sup>(7)</sup>. Se observó en los últimos 20 años, que la tasa de prevalencia de la infección en la población de bajo nivel socioeconómico ha permanecido invariable; mientras que en los estratos socioeconómicos medio y alto se ha observado una disminución sostenida (de 80% a 45%); también se determinó que en los niveles socioeconómicos bajos, la prevalencia de la infección era igual en la costa, sierra y selva; sin embargo no se encontró una predisposición étnica para adquirir la infección <sup>(6)</sup>.



### 1.2.2. Vías de transmisión

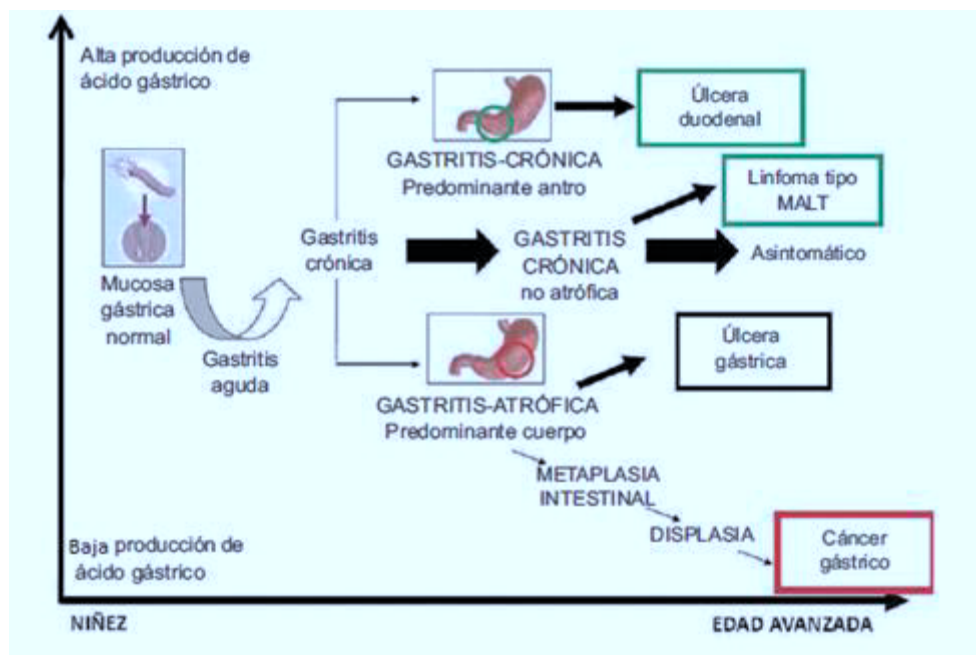
La transmisión de la infección por *H. pylori* se produce predominantemente de persona a persona y se da dentro del entorno familiar, con madres que juegan un papel clave en la transmisión de la infección por *H. pylori* a sus hijos <sup>(8)</sup>. Las vías de transmisión propuestas son fecal-oral, oral-oral y gastro-oral <sup>(2,6,8)</sup>. La primera vía de transmisión es por beber fuentes de agua o alimentos contaminados los cuales actúan como reservorios temporales de la bacteria <sup>(3,6,9,25)</sup>.

La segunda vía de transmisión es por la presencia transitoria de bacterias en la boca que se pueden transmitir por compartir utensilios. Los dentistas y asistentes dentales que tienen una exposición ocupacional continua a la placa dental, no muestran mayores índices de infección por esta bacteria <sup>(6,25)</sup>. Por último, la tercera vía de transmisión se da por el contacto con vómitos de personas infectadas y de manera iatrogénica, a través de procedimientos como colocación de sondas orogástricas, endoscopías y accesorios contaminados con *H. pylori*. Actualmente no existe evidencia de transmisión zoonótica de esta infección, sin embargo, el *H. pylori* ha sido aislado en animales como primates, gatos domésticos y otros <sup>(6)</sup>.

### 1.2.3. Manifestaciones clínicas

La infección aguda por *H. pylori* tiene como síntomas las náuseas, halitosis, dispepsia y malestar general, que son producido por la mayoría de los adultos infectados. Los síntomas son variables que tienden a desaparecer dentro de 2 semanas y se da principalmente en los casos de ingestión deliberada; y La infección crónica conduce a la inflamación local de la mucosa gástrica (gastritis) en las personas infectadas, sin embargo, el grado de la inflamación está influenciado por los factores genéticos del hospedero, virulencia bacteriana, factores ambientales y la edad en haber adquirido la infección. Esto conllevara a que sólo el 15% de las personas infectadas desarrollan la enfermedad <sup>(26)</sup>.

En la **Figura 1** se muestra la historia natural, en la que influyen los factores del hospedero como la edad de adquisición, el tiempo de evolución, las diferencias en los niveles de producción de ácido gástrico entre cada individuo y la región del estómago colonizada por *H. pylori* <sup>(23)</sup>.



**Figura 1.-** Historia natural de la infección por *H. pylori* <sup>(23)</sup>.

Las complicaciones más graves de la infección por *H. pylori* son: la úlcera péptica, adenocarcinoma gástrico y linfoma tipo MALT <sup>(3,8,25,26)</sup>.

#### 1.2.3.1. Úlcera péptica

Las úlceras pépticas son roturas en el revestimiento de la mucosa duodenal o gástrica, más comúnmente causada por el *H. pylori* y los fármacos antiinflamatorios no esteroideos <sup>(26)</sup>. La úlcera péptica causa mayor morbilidad y mortalidad por dolor, sangrado y perforación. La erradicación del *H. pylori* cura las úlceras existentes y previene la recaída de la enfermedad <sup>(8)</sup>.

#### 1.2.3.2. Adenocarcinoma gástrico

El cáncer gástrico está clasificado como la quinta neoplasia más común en todo el mundo con un estimado de 100 000 nuevos casos por año, y es la tercera causa más común de muertes relacionadas con el cáncer, debido a su diagnóstico tardío. El cáncer gástrico no cardia está fuertemente asociada con el *H. pylori*, y se cree que hasta un 89% puede atribuirse a la infección. El riesgo de desarrollar cáncer gástrico en personas infectadas por *H. pylori* es de 1% - 2% <sup>(26)</sup>.

#### 1.2.3.3. Linfoma tipo MALT

El linfoma tipo MALT es una rara manifestación que se desarrolla en 0,1% de personas infectadas por *H. pylori* <sup>(5)</sup>. Cuando la erradicación del *H. pylori* se da en un linfoma de bajo grado normalmente regresan después del tratamiento <sup>(8)</sup>.

#### 1.2.4. Respuesta del hospedero

El *H. pylori* provoca una alta respuesta inmune, estimulando la expresión de citocinas y quimiocinas de las células epiteliales gástricas. Estos factores van atraer neutrófilos, macrófagos, células dendríticas (DCs), célula natural killer (NK) y linfocitos, e inducen la liberación de sustancias reactivas al oxígeno (ROS) y sustancias reactivas al nitrógeno (RNS) <sup>(26)</sup>.

##### 1.2.4.1. La interacción del *H. pylori* con el epitelio gástrico

El *H. pylori* tiene la capacidad de reconocer los receptores de las células del tejido gástrico y adherirse a ellos mediante una familia compleja de adhesinas bacterianas como las adhesinas BabA, SabA, OipA <sup>(6)</sup> y recientemente fue identificada la adhesina LabA <sup>(26)</sup>. Además, se requiere la producción de la enzima ureasa que hidroliza la urea en dióxido de carbono y amonio para neutralizar el pH ácido del estómago. Esto produciría cambios en las propiedades viscoelásticas de las mucinas gástricas, la cual facilitara la motilidad flagelar de la bacteria permitiendo la penetración de la mucosa <sup>(27)</sup>.

##### 1.2.4.2. Inmunidad innata

La inmunidad innata va identificar, responder y modular la respuesta hacia el *H. pylori* y a sus productos microbianos. La respuesta inmune innata está representada principalmente por los receptores tipo Toll y tipo Nod que reconocen a sus ligandos específicos y activan a los factores de transcripción como NF- $\kappa$ B, AP-1, CREB-1, induciendo la producción de citocinas inflamatorias como IL-8, IL-12, IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-18 y TNF- $\alpha$ , e IL-10 <sup>(28)</sup>. En el **Cuadro 1** se detalla los efectos que produce cada interleucina <sup>(29)</sup>.

Interleucina	Efectos
IL-8	Induce la migración de polimorfonucleares, aumenta la permeabilidad y recluta y activa neutrófilos.
IL-6	Induce la respuesta inflamatoria crónica y la infiltración de polimorfonucleares.
IL-10	Inhibe la respuesta por linfocitos Th-1.
IL-12	Favorece la respuesta por linfocitos Th-1 e inhibe la producción de Th-2.
TNF- $\alpha$	Incrementa la producción de IL-8 y de IL-1.
IL-8, IL-1 $\beta$ , IL-16 y TNF- $\alpha$	Macrófagos y células epiteliales inducen e inician la respuesta inmune y la liberación de diferentes interleucinas, además de mediar la inducción de radicales de O <sub>2</sub> y N <sub>2</sub> .
IL = Interleucina; TNF- $\alpha$ = Factor de necrosis tumoral alfa; O <sub>2</sub> = Oxígeno; N <sub>2</sub> = Nitrógeno.	

**Cuadro 1.-** Producción de interleucinas frente a infección por *H.pylori* <sup>(29)</sup>.

### 1.2.4.3. Inmunidad adquirida

#### Inmunidad humoral

Los anticuerpos IgM son parte de la respuesta primaria, elevando sus niveles aproximadamente al quinto día luego de la exposición a la bacteria; los anticuerpos IgA son considerados como el principal anticuerpo implicado en la respuesta inmune a nivel local <sup>(30)</sup>; y los anticuerpos IgG van a contribuir a la inflamación mediante la activación de complemento y facilitando la activación de neutrófilos, estos se elevan aproximadamente al décimo día luego de la exposición primaria al antígeno y sus niveles séricos decaen aproximadamente al veinteavo día <sup>(6,30)</sup>.

#### Inmunidad celular

La infección del *H. pylori* induce una respuesta alta de linfocitos T, que incluye tanto CD4+ y CD8+. Los principales subgrupos de los linfocitos T helper (Th) dan respuesta pro-inflamatoria (Th1 y Th17) y antiinflamatorios (linfocitos T reguladoras (Treg)), sin embargo, se han reportado respuestas de los linfocitos Th2 y Th22. Los linfocitos Th1 secretan citocinas como el TNF $\alpha$  y IFN $\gamma$ , que estimulan a los macrófagos para secretar más factores pro-inflamatorios y tener más actividad bactericida; los linfocitos Th17 secretan las IL-17A, IL-17F, IL-21 e IL-22, que estimulan la expresión de péptidos antimicrobianos, ROS, RNS y quimiocinas, provocando el incremento de la inflamación y el reclutamiento de los neutrófilos, y a su vez el *H. pylori* va inducir la expresión del Factor activador de célula B perteneciente a la familia del TNF (BAFF) en los macrófagos para la diferenciación de los linfocitos Th17; y los linfocitos Tregs secretan la IL-10 y el factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ ) que modulan la inflamación. Además el *H. pylori* va influir en las DCs, para la diferenciación de los linfocitos T vírgenes en linfocitos Tregs <sup>(26)</sup>.

### 1.2.5. Factores de virulencia

El *H. pylori* produce diversos factores de virulencia que pueden desregular las vías de señalización intracelular del hospedero y disminuir el umbral, para la transformación neoplásica <sup>(5)</sup>. Los factores de virulencia están asociados con la enfermedad que desarrolla el hospedero, lo cual se detallara algunas de ellas (**Cuadro 2**) <sup>(23)</sup>.

Gen	Función	Características	Asociación con enfermedad
<b><i>vacA</i></b>	Toxina	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Presente en todas las cepas.</li> <li>- Presenta variación genética en región s y m.</li> <li>- El 50% de las cepas expresan la toxina (genotipo s1/m1 asociado con niveles altos de toxina).</li> <li>- En células epiteliales gástricas, provoca la vacuolización e induce la apoptosis y en linfocitos, inhibe la proliferación Th0 y la presentación de Ag por linfocito B.</li> </ul>	Úlcera duodenal y cáncer gástrico
<b><i>cagPAI</i></b>	Algunos genes codifican para T4SS	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Contiene 27 ORFs (Open Reading Frames).</li> <li>- Asociación con alta inducción de IL-8 en células gástricas.</li> <li>- Trasloca a CagA a la célula epitelial.</li> <li>- Presencia completa o incompleta en las cepas.</li> </ul>	Úlcera duodenal y cáncer gástrico
<b><i>cagA</i></b>	Produce respuesta similar a factores de crecimiento (proliferación celular)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Forma parte de la PAI.</li> <li>- Presenta diversidad genética en la región 3'.</li> <li>- La proteína se trasloca a la célula epitelial gástrica, es fosforilada y modifica el citoesqueleto (hummingbird).</li> </ul>	Úlcera duodenal y cáncer gástrico
<b><i>babA</i></b>	Adhesina	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Presenta dos alelos babA1 y babA2; babA2 contiene 10 nucleótidos adicionales en péptido señal (funcional).</li> </ul>	Úlcera duodenal y cáncer gástrico
<b><i>oipA</i></b>	Adhesina	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Presente en cepas cagA positivas.</li> <li>- Asociación con inducción de IL-8.</li> </ul>	Gastritis crónica y úlcera duodenal

**Cuadro 2.-** Factores de virulencia de *H. pylori* asociados con la enfermedad <sup>(23)</sup>.

### 1.2.6. Métodos de diagnóstico

Actualmente existen varias pruebas de diagnóstico para la detección de *H. pylori* que están disponibles, pero cada prueba tiene su utilidad y limitación en diferentes situaciones clínicas. Los métodos de diagnóstico se clasifican como invasivos y no invasivos <sup>(12)</sup>.

#### 1.2.6.1. Métodos invasivos

##### Prueba rápida de la ureasa

La prueba rápida de la ureasa consiste en detectar la enzima ureasa en muestras de biopsia del antro gástrico. La más común de las técnicas es la CLOtest (prueba Campylobacter like organism), que consiste en colocar una o dos piezas de tejido biopsiado en agar que contiene úrea y un reactivo de pH. La ureasa hidroliza la úrea liberando amonio, el cual alcaliniza el pH, produciendo un cambio de color del reactivo <sup>(6)</sup>. La sensibilidad es superior a 93% y la especificidad es de 98% <sup>(11)</sup>.

## Histología

La histología es considerado como una prueba gold standard y es el primer método utilizado para la detección de *H. pylori*. Sin embargo, hay varios factores que influyen en la precisión diagnóstica tales como la localización, tamaño y número de biopsias, métodos de tinción, inhibidor de la bomba de protones (IBP), los antibióticos y la experiencia del patólogo <sup>(12)</sup>. La sensibilidad y eficacia es comparable a la prueba rápida de ureasa en biopsia <sup>(6)</sup>.

## Cultivo

El cultivo es el método diagnóstico más específico; sin embargo carece de buena sensibilidad. Para la realización de esta prueba se utilizan diferentes medios como Skirrow, agar Mueller–Hinton, agar infusión cerebro-corazón o agar Wilkins Chalgren. Este método es útil para realizar la prueba de sensibilidad antibiótica, sin embargo, es costoso, de larga duración (5-7 días) y de difícil realización <sup>(6, 11)</sup>.

## Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

El PCR se ha utilizado ampliamente en muestras de biopsias gástricas, saliva, heces, jugo gástrico y muestras variables para la detección de *H. pylori*. El PCR tiene una alta sensibilidad y especificidad, mayor de 95%, y tiene resultados más precisos en pacientes con hemorragia <sup>(11)</sup>.

### 1.2.6.2. Métodos no invasivos

#### Prueba del aliento

La prueba del aliento detecta la actividad de la enzima ureasa, esta hidroliza a la urea generando los compuestos de CO<sub>2</sub> y amonio, luego el CO<sub>2</sub> se difunde a través de la mucosa gástrica a la circulación general, pasa a la circulación venosa capilar y se difunde a través del plexo capilar hacia los alveolos, para ser expulsado en el aliento espirado. Se usa moléculas de carbono marcadas (<sup>13</sup>C, <sup>14</sup>C), para que el CO<sub>2</sub> puede ser detectado. Sin embargo, se recomienda evitar el uso de <sup>14</sup>C en niños y gestantes por ser radioactiva <sup>(6,11,12)</sup>. La sensibilidad y especificidad de esta prueba se encuentra alrededor del 95% <sup>(11)</sup>.

## Serología

Las pruebas serológicas son simples, rápidas y económicas, además son las únicas que permiten realizar estudios epidemiológicos en la población <sup>(6,11,12)</sup>. Estas pruebas no son afectados por el sangrado de las úlceras, atrofia gástrica, ni el uso de inhibidores de la bomba de protones o antibióticos, a comparación de las otras pruebas invasivas y no invasivas que nos pueden dar resultados falsos negativos <sup>(12,30)</sup>. La limitación principal de la serología es su incapacidad para distinguir entre la infección activa y una infección pasada por *H. pylori*, ya que los niveles de anticuerpos tienen larga duración y persisten alrededor de 6 meses en la sangre y nos puede dar resultados falsos positivos <sup>(6,11,12)</sup>. La sensibilidad de

esta prueba se encuentra alrededor de 90% a 100% y la especificidad es de 76% a 96% <sup>(6)</sup>.

### **Detección del antígeno en heces**

Este método detecta la presencia de antígeno de *H. pylori* en muestras de heces y es útil para el diagnóstico de la infección en pacientes de cualquier edad, sobretodo en niños <sup>(31)</sup>. La sensibilidad y especificidad de esta prueba se encuentra alrededor de 94% y 97% respectivamente <sup>(12)</sup>.

#### **1.2.6.3. Otros métodos de detección**

##### **Detección de anticuerpos en orina**

La detección de anticuerpos en orina no es precisa y no se sugiere para el seguimiento de los pacientes después del tratamiento, por ende, es necesario realizar más estudios para validar su factibilidad en el diagnóstico de la infección de *H. pylori* <sup>(12,31)</sup>.

##### **Detección en la cavidad oral**

Hay estudios que han evaluado la saliva y la placa dental como posibles muestras para el diagnóstico de *H. pylori*. Estudios en muestras de saliva reportan que la sensibilidad y especificidad es inferior al 90%. Por otra parte, el cultivo de la bacteria de la cavidad oral a veces ha sido positivo <sup>(31)</sup>.

#### **1.2.7. Tratamiento**

El tratamiento ideal contra el *H. pylori* debe ser eficaz, de bajo costo, con mínimos efectos adversos, de fácil administración y combinando los agentes con acción sistémica y local. Hasta el momento no se ha logrado un esquema de tratamiento ideal; las terapias actuales presentan índices de fracaso de hasta 20-30%. Los principales factores determinantes del fracaso a la terapia son la falta de adherencia de los pacientes y la resistencia bacteriana a los antibióticos empleados. La adherencia depende de la complejidad de los esquemas y la frecuencia de efectos adversos. La duración óptima del tratamiento es aún controversial. La mayoría de consensos recomiendan una duración no menor de 7 días ni mayor de 14 días y los esquemas de terapia triple y cuádruple se han convertido en las mejores opciones terapéuticas (**Cuadro 3**) <sup>(6)</sup>.

PRIMERA LÍNEA
<u>Terapia Triple con Claritromicina</u> Inhibidor de bomba + Claritromicina (500 mg) + Amoxicilina (1 g) Dos veces al día, 3 a 60 minutos antes del desayuno y la comida por 10 a 14 días.
<u>Terapia Cuádruple con Bismuto</u> Inhibidor de bomba (dos veces al día) + Bismuto (525 mg. cuatro veces al día) + Tetraciclina (500 mg. cuatro veces al día) + Metronidazol (500 mg. cuatro veces al día)
SEGUNDA LÍNEA
1. Terapia Triple reemplazando la claritromicina por el metronidazol, en poblaciones con resistencia al metronidazol menor a 40% 2. Terapia Cuádruple con Bismuto, cuando no haya sido usado como primera línea.
TERCERA LÍNEA O RESCATE
Se recomienda realizar estudio de cultivo y sensibilidad antibiótica

**Cuadro 3.** Esquema de tratamiento del *H. pylori* <sup>(6)</sup>.

### 1.3. OBJETIVOS

#### 1.3.1. Objetivo general:

- Determinar la frecuencia de anticuerpos IgG e IgM contra *H. pylori* en los sueros de pacientes que acuden a la Clínica Privada “Suiza Lab”, en el periodo junio-julio del 2015.

#### 1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar la frecuencia de anticuerpos IgG contra *H. pylori* en los sueros de pacientes que acuden a la Clínica Privada “Suiza Lab”, en el periodo junio-julio del 2015, según sexo.
- Determinar la frecuencia de anticuerpos IgG contra *H. pylori* en los sueros de pacientes que acuden a la Clínica Privada “Suiza Lab”, en el periodo junio-julio del 2015, según edad.
- Determinar la frecuencia de anticuerpos IgM contra *H. pylori* en los sueros de pacientes que acuden a la Clínica Privada “Suiza Lab”, en el periodo junio-julio del 2015, según sexo.
- Determinar la frecuencia de anticuerpos IgM contra *H. pylori* en los sueros de pacientes que acuden a la Clínica Privada “Suiza Lab”, en el periodo junio-julio del 2015, según edad.



- Determinar la frecuencia de anticuerpos IgG e IgM contra *H. pylori* en los sueros de pacientes que acuden a la Clínica Privada “Suiza Lab”, en el periodo junio-julio del 2015, según sexo.
- Determinar la frecuencia de anticuerpos IgG e IgM contra *H. pylori* en los sueros de pacientes que acuden a la Clínica Privada “Suiza Lab”, en el periodo junio-julio del 2015, según edad.

#### **1.4. FINALIDAD**

La finalidad del presente estudio es determinar la frecuencia de anticuerpos IgG e IgM contra *H. pylori* en los sueros de pacientes que acuden a la Clínica Privada “Suiza Lab”.

## **CAPÍTULO II**

### **MÉTODOS**

## MÉTODOS

### 2.1. DISEÑO

El estudio fue descriptivo, retrospectivo y transversal.

### 2.2. POBLACIÓN

Los sueros de pacientes atendidos en la Clínica Privada “Suiza Lab” que tuvieron solicitud de evaluación serológica para detectar anticuerpos contra *H. pylori* mediante pruebas de ELISA en el periodo junio-julio del 2015.

### 2.3. MUESTRA

Se estudiaron 520 sueros de pacientes de la Clínica Privada “Suiza Lab” que tuvieron solicitud de evaluación serológica para detectar anticuerpos contra *H. pylori* mediante pruebas de ELISA en el periodo junio-julio del 2015. Los resultados de los sueros de pacientes evaluados, fueron agrupada de la siguiente forma: **Grupo 1** conformado por los resultados de la prueba de ELISA IgG anti-*H. pylori* ( $n_1=137$ ), **Grupo 2** conformado por los resultados de la prueba de ELISA IgM anti-*H. pylori* ( $n_2=215$ ) y **Grupo 3** conformado por los resultados de las pruebas de ELISA IgG y ELISA IgM anti-*H. pylori* ( $n_3=168$ ).

### 2.4. VARIABLES

**Variable de estudio:** frecuencia de anticuerpos IgG e IgM contra *H. pylori*.

**Variable de caracterización:** edad, sexo y resultados de la prueba de ELISA anti-*H. pylori*.

### 2.5. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS

#### Técnicas

- Técnica de análisis de registros

#### Instrumento

- Ficha de recolección de datos

### 2.6. CRITERIO DE SELECCIÓN

#### Criterios de inclusión

- Los sueros de pacientes que tengan todos sus datos e información (edad, sexo y resultados de ELISA).

- Los sueros de pacientes que tuvieron solicitud de evaluación serológica para detectar anticuerpos IgG e IgM contra *H. pylori* mediante pruebas de ELISA.

### **Criterios de exclusión**

- Los sueros de pacientes que no tengan todos sus datos de información (edad, sexo y resultados de ELISA).
- Los sueros de pacientes que no tuvieron solicitud de evaluación serológica para detectar anticuerpos IgG e IgM contra *H. pylori* mediante pruebas de ELISA.

## **2.7. PLAN DE PROCEDIMIENTOS**

Para realizar el estudio se realizó las respectivas coordinaciones y los trámites administrativos pertinentes, para lo cual se presentó una solicitud a la gerente general de la Clínica Privada “Suiza Lab” a fin de obtener la autorización para realizar las acciones programadas.

### **Recolección de datos**

Se recopiló los datos para este estudio en la ficha de recolección de datos a partir de la hoja de resultados de los sueros de pacientes que tuvieron solicitud de evaluación serológica para detectar anticuerpos IgG e IgM contra *H. pylori* mediante pruebas de ELISA, durante el periodo de junio-julio del 2015 en la Clínica Privada “Suiza Lab” (**Anexo N° 01 y N° 02**).

### **Prueba de ELISA**

Se realizó la prueba de ELISA IgG y ELISA IgM anti- *H. pylori* con el kit comercial de la marca **SERION® Immunologics** en el Servicio de laboratorio clínico, área *Inmuno-Manual*, de la Clínica Privada “Suiza Lab”; la prueba de ELISA es un inmunoensayo particularmente apropiado para la determinación de anticuerpos en el campo de la serología infecciosa. La reacción se basa en la interacción específica de anticuerpos con su antígeno correspondiente. Las tiras reactivas de 8 pocillos cada una de la placa de microtitulación de **SERION ELISA Classic** están recubiertas con antígenos específicos del *H. pylori* (formada por componentes citoplasmáticos y de membrana extraídos). Si los anticuerpos en la muestra de suero del paciente están presentes, se unen al antígeno fijado. Luego el anticuerpo secundario, que se ha conjugado con la enzima fosfatasa alcalina, se detecta y se va unir al complejo inmune. El sustrato incoloro *p-nitrofenolfosfato* se convierte entonces en el producto coloreado *p-nitrofenol*. La intensidad de la señal de este producto de reacción es proporcional a la concentración del analito en la muestra y se mide espectrofotométricamente (**Anexo N° 03**). Los resultados y la interpretación de ellos, se obtuvieron siguiendo las formulas provistas por el kit comercial (**Anexo N° 04**).

## Control de Calidad

El kit comercial tiene certificado de acuerdo con la Directiva de productos sanitarios para diagnóstico in vitro de Europea 98/79/CE y el sistema de gestión de calidad está certificada según la norma DIN EN ISO 13485; se utilizó los **SERION ELISA controles** (suero patrón y control negativo) para la verificación periódica de las pruebas de ELISA dando precisión y fiabilidad en las corridas de las pruebas. Para cada corrida de prueba se utilizó 1 blanco de sustrato, 1 control negativo y 1 suero patrón por duplicado y de acuerdo a los siguientes criterios se validaron los resultados:

- El blanco de sustrato debe ser  $< 0,25$  DO (Densidad Óptica).
- El control negativo debe producir un resultado negativo de la prueba.
- El valor DO medio (después de restar el blanco de sustrato) del suero patrón debe estar dentro del intervalo de validez que se proporciona en el certificado de control de calidad del lote (**Anexo N° 05**).
- La variación de valores DO del suero patrón no pueden ser superiores al 20 %.

En conclusión, si no se cumplen estos criterios, la prueba no es válida y se debe repetir.

Para la evaluación automatizada de las señales de medición ópticas, se utilizó como herramienta de software en **Microsoft® Excel**, **VIRION SERION** y así se determinó los resultados de la prueba. Todo el procedimiento se realizó en el área de *Inmuno-Manual* de la Clínica Privada “Suiza Lab” en el periodo junio-julio 2015 (**Anexo N° 06**).

## 2.8. ANÁLISIS DE DATOS

Los datos y resultados recopilados en ficha de recolección de datos, fueron ingresados en el programa Microsoft Excel 2010 y posteriormente se procesaron con el paquete estadístico SPSS 21. Se realizó la prueba de Chi cuadrado para determinar la asociación entre las variables y se consideró estadísticamente significativo un  $p < 0,05$ .

## 2.9. CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente estudio se basa de una información de fuente secundaria, según los datos registrados en la Clínica Privada “Suiza Lab”. Para el siguiente estudio fue necesario coordinar y enviar una solicitud a la gerente general de la Clínica Privada “Suiza Lab”, explicándole la finalidad de la investigación y la importancia del estudio en el que se asegura el anonimato y la confidencialidad de los datos obtenidos de los sueros de pacientes.

## **CAPÍTULO III**

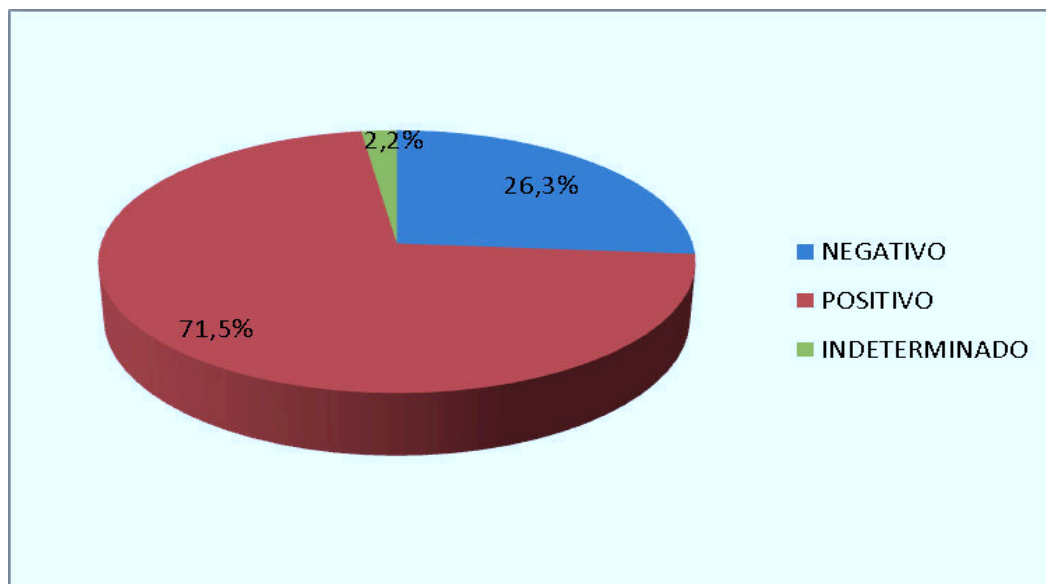
### **RESULTADOS**

## RESULTADOS

La muestra estudiada incluyó a 520 sueros de pacientes, de los cuales la edad promedio fue  $39 \pm 18,7$  años y el 76,5% (398/520) fueron positivos para las pruebas de ELISA IgG o ELISA IgM.

### 3.1. Determinación de los resultados de la prueba de ELISA IgG anti-*H. pylori* del Grupo 1

Se encontró que en el resultado de la prueba de ELISA IgG anti-*H. pylori* del **Grupo 1** ( $n_1=137$ ), el 71,5% (98/137) de los sueros de pacientes fueron positivos, 2,2% (3/137) fueron indeterminados y 26,3% (36/137) fueron negativos (**Figura 2**).



**Figura 2.- Resultados de la prueba de ELISA IgG anti-*H. pylori*.**

Fuente: Servicio de Laboratorio Clínico, área *Inmuno-Manual*, de la Clínica Privada "Suiza Lab" en el periodo junio-julio 2015.

La distribución del sexo del **Grupo 1** fue de 64,2% (88/137) sueros de pacientes del sexo femenino y 35,8% (49/137) sueros de pacientes del sexo masculino. En el grupo de sexo femenino, el 68,2% (60/88) fue positivo a la prueba de ELISA IgG anti-*H. pylori*, el 2,3% (2/88) fue indeterminado y el 29,5% (26/88) fue negativo; y en el grupo de sexo masculino el 77,6% (38/49) fue positivo a la prueba de ELISA IgG anti-*H. pylori*, el 2,0% (1/49) fue indeterminado y el 20,4% (10/49) fue negativo, sin encontrar diferencia significativa entre ellas ( $p=0,498$ ) (**Tabla 1**).

**Tabla 1.- Resultados de la prueba de ELISA IgG anti-*H. pylori* según sexo.**

	Femenino		Masculino		Total
	n	%	n	%	
Negativo	26	29,5	10	20,4	36
Indeterminado	2	2,3	1	2,0	3
Positivo	60	68,2	38	77,6	98
Total	88	100,0	49	100,0	137

Fuente: Servicio de Laboratorio Clínico, área *Inmuno-Manual*, de la Clínica Privada “Suiza Lab” en el periodo junio-julio 2015.

La distribución de los grupos etarios del **Grupo 1**, fueron divididas por las etapas de la vida según el “Modelo de Atención Integral de Salud”, aprobado por Resolución Ministerial N°729-2003-SA/DM del 20 de junio de 2003, y son las siguientes: 2,2% (3/137) sueros de pacientes entre 0 a 11 años (niño), 9,5% (13/137) entre 12 a 17 años (adolescente), 29,2% (40/137) entre 18 a 29 años (joven), 43,8% (60/137) entre 30 a 59 años (adulto), 15,3% (21/137) entre 60 años a más (adulto mayor). En el grupo de 0 a 11 años, el 66,7% (2/3) fue positivo a la prueba de ELISA IgG anti-*H. pylori*, el 0% (0/3) fue indeterminado y el 33,3% (1/3) fue negativo; en el grupo de 12 a 17 años, el 46,2% (6/13) fue positivo, el 0% (0/13) fue indeterminado y el 53,8% (7/13) fue negativo; en el grupo de 18 a 29 años, el 70% (28/40) fue positivo, el 2,5% (1/40) fue indeterminado y el 27,5% (11/40) fue negativo; en el grupo de 30 a 59 años, el 76,7% (46/60) fue positivo, el 1,7% (1/60) fue indeterminado y el 21,6% (13/60) fue negativo; y en el grupo de 60 años a más, el 76,2% (16/21) fue positivo, el 4,8% (1/21) fue indeterminado y el 19% (4/21) fue negativo, tampoco se encontró diferencia significativa entre ellas ( $p=0,505$ ) (**Tabla 2**).

**Tabla 2.- Resultados de la prueba de ELISA IgG anti-*H. pylori* según grupo etario.**

	<u>Niño</u>		<u>Adolescente</u>		<u>Joven</u>		<u>Adulto</u>		<u>Adulto mayor</u>		Total
	<u>0–11 años</u>		<u>12–17 años</u>		<u>18-29 años</u>		<u>30-59 años</u>		<u>≥60 años</u>		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Negativo	1	33,3	7	53,8	11	27,5	13	21,6	4	19,0	36
Indeterminado	0	0	0	0	1	2,5	1	1,7	1	4,8	3
Positivo	2	66,7	6	46,2	28	70,0	46	76,7	16	76,2	98
Total	3	100,0	13	100,0	40	100,0	60	100,0	21	100,0	137

Fuente: Servicio de Laboratorio Clínico, área *Inmuno-Manual*, de la Clínica Privada “Suiza Lab” en el periodo junio-julio 2015. Los grupos etarios, divididas por las etapas de la vida según el “Modelo de Atención Integral de Salud”, aprobado por Resolución Ministerial N°729-2003-SA/DM del 20 de junio de 2003.



La distribución del sexo y el grupo etario de los resultados positivos de la prueba de ELISA IgG anti-*H. pylori* del **Grupo 1** fueron las siguientes: en el grupo del sexo femenino, el 50% (30/60) de los resultados positivos de la prueba de ELISA IgG anti-*H. pylori* son del grupo de 30 a 59 años y en el grupo de sexo masculino, el 42,1% (16/38) de los resultados positivos de la prueba de ELISA IgG anti-*H. pylori*, también son del grupo de 30 a 59 años (**Tabla 3**).

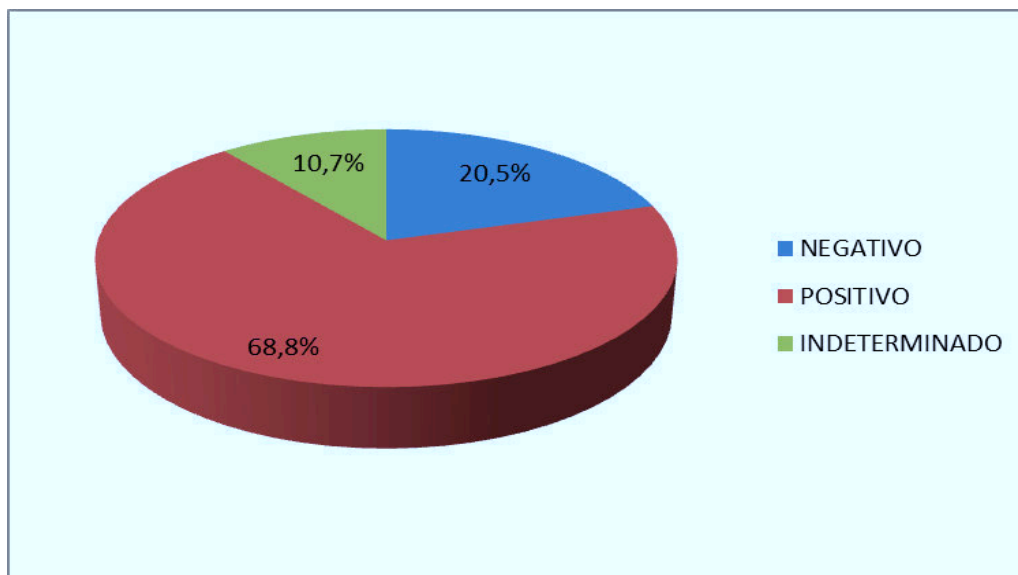
**Tabla 3.- Distribución por sexo y grupo etario de los resultados positivos de la prueba de ELISA IgG anti-*H. pylori*.**

Grupo etario	Sexo				Total
	<u>Femenino</u>		<u>Masculino</u>		
	n	%	n	%	
0 – 11 años	2	3,3	0	0	2
12 – 17 años	2	3,3	4	10,5	6
18 - 29 años	14	23,4	14	36,9	28
30 - 59 años	30	50,0	16	42,1	46
≥ 60 años	12	20,0	4	10,5	16
Total	60	100,0	38	100,0	98

Fuente: Servicio de Laboratorio Clínico, área *Inmuno-Manual*, de la Clínica Privada “Suiza Lab” en el periodo junio-julio 2015. Los grupos etarios, divididas por las etapas de la vida según el “Modelo de Atención Integral de Salud”, aprobado por Resolución Ministerial N°729-2003-SA/DM del 20 de junio de 2003.

### 3.2. Determinación de los resultados de la prueba ELISA IgM anti-*H. pylori* del Grupo 2

Se encontró que en el resultado de la prueba ELISA IgM anti-*H. pylori* del **Grupo 2** ( $n_2=215$ ), el 68,8% (148/215) de los sueros de pacientes fueron positivos, 10,7% (23/215) fueron indeterminados y 20,5% (44/215) fueron negativos (**Figura 3**).



**Figura 3.- Resultados de la prueba de ELISA IgM anti-*H. pylori* en el Grupo 2.**

Fuente: Servicio de Laboratorio Clínico, área *Inmuno-Manual*, de la Clínica Privada “Suiza Lab” en el periodo junio-julio 2015.

La distribución del sexo del **Grupo 2** fue de 60,5% (130/215) sueros de pacientes del sexo femenino y 39,5% (85/215) sueros de pacientes del sexo masculino. En el grupo de sexo femenino, el 79,3% (103/130) fue positivo a la prueba de ELISA IgM anti-*H. pylori*, el 7,7% (10/130) fue indeterminado y el 13,0% (17/130) fue negativo; y en el grupo de sexo masculino el 53,0% (45/85) fue positivo a la prueba de ELISA IgM anti-*H. pylori*, el 15,3% (13/85) fue indeterminado y el 31,7% (27/85) fue negativo, se observa una relación estadísticamente significativa entre ambas variables ( $p=0,000$ ) (**Tabla 4**).

**Tabla 4.- Resultados de la prueba de ELISA IgM anti-*H. pylori* según sexo.**

	<u>Femenino</u>		<u>Masculino</u>		Total
	n	%	n	%	
Negativo	17	13,0	27	31,7	44
Indeterminado	10	7,7	13	15,3	23
Positivo	103	79,3	45	53,0	148
Total	130	100,0	85	100,0	215

Fuente: Servicio de Laboratorio Clínico, área *Inmuno-Manual*, de la Clínica Privada “Suiza Lab” en el periodo junio-julio 2015

La distribución de los grupos etarios del **Grupo 2**, fueron divididas por las etapas de la vida según el “Modelo de Atención Integral de Salud”, aprobado por Resolución Ministerial N°729-2003-SA/DM del 20 de junio de 2003, y son las siguientes: 4,2% (9/215) sueros de pacientes entre 0 a 11 años (niño), 5,6% (12/215) entre 12 a 17 años (adolescente), 25,6% (55/215) entre 18 a 29 años (joven), 46% (99/215) entre 30 a 59 años (adulto), 18,6% (40/215) entre 60 años a más (adulto mayor). En el grupo de 0 a 11 años, el 33,4% (3/9) fue positivo a la prueba de ELISA IgM anti-*H. pylori*, el 22,2% (2/9) fue indeterminado y el 44,4% (4/9) fue negativo; en el grupo de 12 a 17 años, el 83,4% (10/12) fue positivo, el 0% (0/12) fue indeterminado y el 16,6% (2/12) fue negativo; en el grupo de 18 a 29 años, el 76,3% (42/55) fue positivo, el 7,3% (4/55) fue indeterminado y el 16,4% (9/55) fue negativo; en el grupo de 30 a 59 años, el 67,7% (67/99) fue positivo, el 13,1% (13/99) fue indeterminado y el 19,2% (19/99) fue negativo; y en el grupo de 60 años a más, el 65% (26/40) fue positivo, el 10% (4/40) fue indeterminado y el 25% (10/40) fue negativo, sin encontrar diferencia significativa entre ellas ( $p=0,743$ ) (**Tabla 5**).

**Tabla 5.- Resultados de la prueba de ELISA IgM anti-*H. pylori* según grupo etario.**

	<u>Niño</u>		<u>Adolescente</u>		<u>Joven</u>		<u>Adulto</u>		<u>Adulto mayor</u>		Total
	<u>0–11 años</u>		<u>12–17 años</u>		<u>18-29 años</u>		<u>30-59 años</u>		<u>≥60 años</u>		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Negativo	4	44,4	2	16,6	9	16,4	19	19,2	10	25,0	44
Indeterminado	2	22,2	0	0	4	7,3	13	13,1	4	10,0	23
Positivo	3	33,4	10	83,4	42	76,3	67	67,7	26	65,0	148
Total	9	100,0	12	100,0	55	100,0	99	100,0	40	100,0	215

Fuente: Servicio de Laboratorio Clínico, área *Inmuno-Manual*, de la Clínica Privada “Suiza Lab” en el periodo junio-julio 2015. Los grupos etarios, divididas por las etapas de la vida según el “Modelo de Atención Integral de Salud”, aprobado por Resolución Ministerial N°729-2003-SA/DM del 20 de junio de 2003.

La distribución del sexo y el grupo etario de los resultados positivos de la prueba de ELISA IgM anti-*H. pylori* del **Grupo 2** fueron las siguientes: en el grupo del sexo femenino, el 46,6% (48/103) de los resultados positivos de la prueba de ELISA IgM anti-*H. pylori* son del grupo de 30 a 59 años y en el grupo de sexo masculino, el 42,2% (19/45) de los resultados positivos de la prueba de ELISA IgM anti-*H. pylori*, también son del grupo de 30 a 59 años (**Tabla 6**).

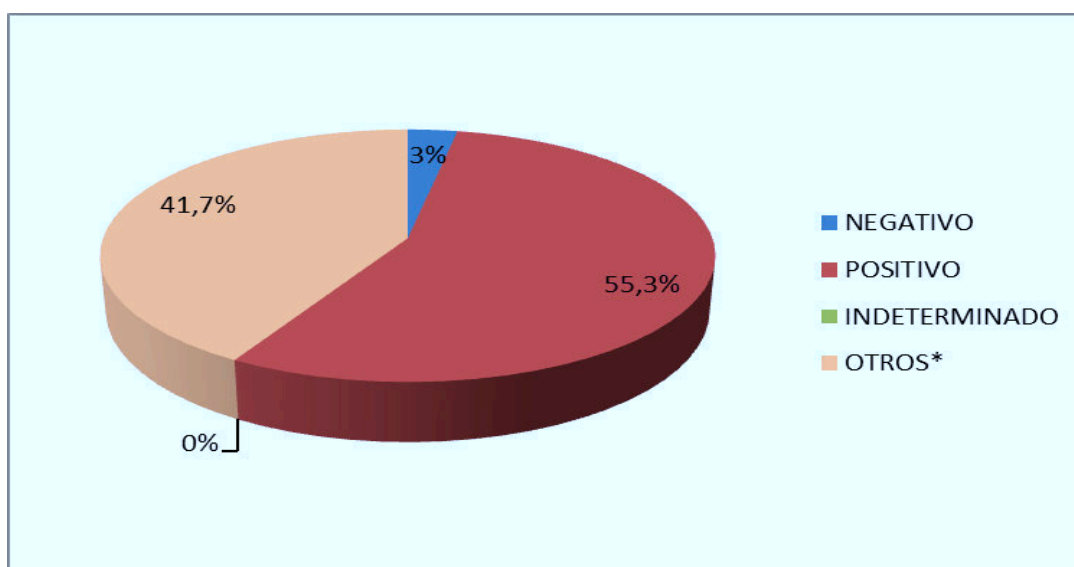
**Tabla 6.- Distribución por sexo y grupo etario de los resultados positivos de la prueba de ELISA IgM anti-*H. pylori*.**

Grupo etario	Sexo				Total
	<u>Femenino</u>		<u>Masculino</u>		
	n	%	n	%	
0 – 11 años	2	1,9	1	2,2	3
12 – 17 años	7	6,8	3	6,7	10
18 - 29 años	30	29,1	12	26,7	42
30 - 59 años	48	46,6	19	42,2	67
≥ 60 años	16	15,6	10	22,2	26
Total	103	100,0	45	100,0	148

Fuente: Servicio de Laboratorio Clínico, área *Inmuno-Manual*, de la Clínica Privada “Suiza Lab” en el periodo junio-julio 2015. Los grupos etarios, divididas por las etapas de la vida según el “Modelo de Atención Integral de Salud”, aprobado por Resolución Ministerial N°729-2003-SA/DM del 20 de junio de 2003.

### 3.3. Determinación de los resultados de las pruebas de ELISA IgG y ELISA IgM anti-*H. pylori* del Grupo 3

Se encontró que en los resultados de las pruebas de ELISA IgG y ELISA IgM anti-*H. pylori* del **Grupo 3** ( $n_3=168$ ), el 55,3% (93/168) de los sueros de pacientes fueron positivos, 0% (0/168) fueron indeterminados, 2,9% (5/168) fueron negativos para ambas pruebas y el 41,7% (70/168) fueron indeterminado-positivo, negativo-indeterminado y negativo-positivo para las pruebas de ELISA IgG y ELISA IgM anti-*H. pylori* (**Figura 4**).



**Figura 4.- Resultados de las pruebas de ELISA IgG y ELISA IgM anti-*H. pylori* en el Grupo 3.**

Fuente: Servicio de Laboratorio Clínico, área *Inmuno-Manual*, de la Clínica Privada “Suiza Lab” en el periodo junio-julio 2015.

\*Resultados de las pruebas de ELISA IgG y ELISA IgM anti-*H. pylori*: indeterminado positivo, negativo-indeterminado y negativo-positivo.

La distribución del sexo del **Grupo 3** fue de 57,1% (96/168) sueros de pacientes del sexo femenino y 42,9% (72/168) sueros de pacientes del sexo masculino. En el grupo del sexo femenino, el 56,3% (54/96) fue positivo, el 0% (0/96) fue indeterminado, el 2,1% (2/96) fue negativo para ambas pruebas de ELISA IgG y ELISA IgM anti-*H. pylori* y el 41,6% (40/96) fueron indeterminado-positivo, negativo-indeterminado y negativo-positivo para las pruebas de ELISA IgG y ELISA IgM anti-*H. pylori*; y en el grupo de sexo masculino, el 54,2% (39/72) fue positivo, el 0% (0/72) fue indeterminado, el 4,1% (3/72) fue negativo para ambas pruebas de ELISA IgG y ELISA IgM anti-*H. pylori* y el 41,7% (30/72) fueron indeterminado-positivo, negativo-indeterminado y negativo-positivo para las pruebas de ELISA IgG y ELISA IgM anti-*H. pylori* (**Tabla 7**).

**Tabla 7.- Resultados de las pruebas de ELISA IgG y ELISA IgM anti-*H. pylori* según sexo.**

	<u>Femenino</u>		<u>Masculino</u>		Total
	n	%	n	%	
Negativo	2	2,1	3	4,1	5
Indeterminado	0	0	0	0	0
Positivo	54	56,3	39	54,2	93
Otros*	40	41,6	30	41,7	70
Total	96	100,0	72	100,0	168

Fuente: Servicio de Laboratorio Clínico, área *Inmuno-Manual*, de la Clínica Privada “Suiza Lab” en el periodo junio-julio 2015.

\*Resultados de las pruebas de ELISA IgG y ELISA IgM anti-*H. pylori*: indeterminado positivo, negativo-indeterminado y negativo-positivo.

La distribución de los grupos etarios del **Grupo 3**, fueron divididas por las etapas de la vida según el “Modelo de Atención Integral de Salud”, aprobado por Resolución Ministerial N°729-2003-SA/DM del 20 de junio de 2003, y son las siguientes: 2,9% (5/168) sueros de pacientes entre 0 a 11 años (niño), 5,4% (9/168) entre 12 a 17 años (adolescente), 27,4% (46/168) entre 18 a 29 años (joven), 50,6% (85/168) entre 30 a 59 años (adulto), 13,7% (23/168) entre 60 años a más (adulto mayor). En los resultados positivos para la prueba de ELISA IgG y ELISA IgM anti-*H. pylori*, el grupo de 0 a 11 años fue de 0% (0/5), el grupo de 12 a 17 años fue de 44,4% (4/9); el grupo de 18 a 29 años fue de 60,9% (28/46), el grupo de 30 a 59 años fue de 56,5% (48/85) y el grupo de 60 años a más fue de 56,6% (13/23) (**Tabla 8**).

**Tabla 8.- Resultados de las pruebas de ELISA IgG y ELISA IgM anti-*H. pylori* según grupo etario.**

	<u>Niño</u>		<u>Adolescente</u>		<u>Joven</u>		<u>Adulto</u>		<u>Adulto mayor</u>		Total
	<u>0–11 años</u>		<u>12–17 años</u>		<u>18-29 años</u>		<u>30-59 años</u>		<u>≥60 años</u>		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Negativo	0	0	0	0	1	2,2	3	3,5	1	4,3	5
Indeterminado	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Positivo	0	0	4	44,4	28	60,9	48	56,5	13	56,6	93
Otros*	5	100,0	5	55,6	17	36,9	34	40,0	9	39,1	70
Total	5	100,0	9	100,0	46	100,0	85	100,0	23	100,0	168

Fuente: Servicio de Laboratorio Clínico, área *Inmuno-Manual*, de la Clínica Privada “Suiza Lab” en el periodo junio-julio 2015. Los grupos etarios, divididas por las etapas de la vida según el “Modelo de Atención Integral de Salud”, aprobado por Resolución Ministerial N°729-2003-SA/DM del 20 de junio de 2003.

\*Resultados de las pruebas de ELISA IgG y ELISA IgM anti-*H. pylori*: indeterminado-positivo, negativo-indeterminado y negativo-positivo.

La distribución del sexo y el grupo etario de los resultados positivos para ambas pruebas de ELISA IgG y ELISA IgM anti-*H. pylori* del **Grupo 3** fueron las siguientes: en el grupo del sexo femenino, el 48,2% (26/54) de los resultados positivos para ambas pruebas son del grupo de 30 a 59 años y en el grupo de sexo masculino, el 56,4% (22/39) de los resultados positivos para ambas pruebas, también son del grupo de 30 a 59 años (**Tabla 9**).

**Tabla 9.- Distribución por sexo y grupo etario de los resultados positivos para ambas pruebas de ELISA IgG y ELISA IgM anti-*H.pylori*.**

Grupo etario	Sexo				Total
	<u>Femenino</u>		<u>Masculino</u>		
	n	%	n	%	
0 – 11 años	0	0	0	0	0
12 – 17 años	2	3,7	2	5,1	4
18 - 29 años	20	37,0	8	20,5	28
30 - 59 años	26	48,2	22	56,4	48
≥ 60 años	6	11,1	7	18,0	13
Total	54	100,0	39	100,0	93

Fuente: Servicio de Laboratorio Clínico, área *Inmuno-Manual*, de la Clínica Privada “Suiza Lab” en el periodo junio-julio 2015. Los grupos etarios, divididas por las etapas de la vida según el “Modelo de Atención Integral de Salud”, aprobado por Resolución Ministerial N°729-2003-SA/DM del 20 de junio de 2003.

## **CAPÍTULO IV**

### **DISCUSIÓN**



## DISCUSIÓN

El *H. pylori* es una de las bacterias patógenas más comunes en el ser humano y se calcula que aproximadamente el 60% de la población mundial se encuentra colonizada por esta bacteria, presentándose las mayores tasas de infección en poblaciones en vías de desarrollo que en las poblaciones de países desarrollados <sup>(2,5,6)</sup>. Estudios retrospectivos seroepidemiológicos muestran que la infección, principalmente es adquirida en la niñez <sup>(2,6,7)</sup>.

La infección aguda por *H. pylori*, tiene como característica presentar síntomas como náuseas, pirosis, halitosis, dispepsia y malestar general, estos pueden durar 2 semanas, luego la infección se vuelve crónica y va ser asintomática. Los factores que predisponen a una mayor probabilidad de desarrollar el cáncer gástrico son: los factores genéticos del hospedero, virulencia bacteriana, factores ambientales y la edad del hospedero de haber adquirido la infección <sup>(26)</sup>.

El presente estudio fue realizado con los sueros de pacientes con orden del médico tratante, que acudieron a los servicios de laboratorio de la Clínica para realizarse la prueba de ELISA IgG y ELISA IgM.

En los sueros de pacientes del Grupo 1, la frecuencia de anticuerpos IgG contra *H. pylori* detectados mediante la prueba de ELISA IgG fue de 71,5%, valores similares obtenido por Cifuentes *et al.* (2012) en Guatemala que fue de 72.19%, pero un valor mayor al de Elhag y Omer (2012) en Sudán, que encontraron una frecuencia de 63,3%, al de Hadad *et al.* (2003) en Perú, que fue de 61,96%, al de Łaszewicz *et al.* (2002) en Polonia que fue de 58.29%, al de Lange *et al.* (2008) en Guatemala que determinaron una frecuencia de 39,76% y al de Kim *et al.* (2013) en Corea que la seroprevalencia fue de 38,7%.

Los sueros de pacientes entre 30 a 59 años presentaron una frecuencia de anticuerpos IgG anti-*H. pylori* de 76,7% con respecto a los demás edades del Grupo 1. Estudios realizados en nuestro país, muestran una elevada prevalencia de anticuerpos IgG de *H. pylori* de 73% en niños de 0 a 5 años <sup>(13)</sup> y de 60,86% en niños de 3 a 14 años <sup>(14)</sup>, posiblemente afirmando que la infección se adquiere en la niñez. En nuestro estudio se obtuvo que el 50% de los menores de edad tuvieron resultados positivos a la prueba de ELISA IgG. No pudo compararse por 8/16 participantes.

En el Grupo 1 de estudio se observó que el sexo femenino tuvo una frecuencia de anticuerpos IgG anti-*H. pylori* de 68,2% y el masculino de 77,6%. Estos valores son similares a los obtenidos por Cifuentes *et al.* (2012) en Guatemala que fue de 69,81% en el sexo femenino y 77,77% en sexo masculino, pero mayor al estudio de Elhag y Omer (2012) en Sudán que fue de 63,2% en el grupo femenino y el grupo masculino fue de 36,8%, y al estudio de Alvarado (2008) en México que fue de 52,2% en una población de 343 mujeres embarazadas. Las causas de esta

variación de frecuencia entre el mencionado estudio puede ser por el diseño de investigación y el tamaño de muestra de nuestro estudio.

Se observa que los anticuerpos IgG anti-*H. pylori* presentó un porcentaje de positividad elevado. Estos anticuerpos se elevan aproximadamente al décimo día luego de la exposición primaria al antígeno y sus niveles séricos decaen aproximadamente al veinteavo día y pueden permanecer inactivos, pero al exponerse el paciente nuevamente al antígeno se eleva a un nivel más alto como respuesta secundaria, permaneciendo elevado los anticuerpos IgG por un periodo más prolongado, y constituyendo así una inmunidad de memoria <sup>(30)</sup>. Los resultados obtenidos en este estudio posiblemente indican que la mayoría de pacientes se expusieron previamente a la infección por *H. pylori*.

En los sueros de pacientes del Grupo 2, la frecuencia de anticuerpos IgM contra *H. pylori* detectados mediante la prueba de ELISA IgM fue de 68,8%, valores mayores al de Lange *et al.* (2008) en Guatemala, que encontraron una frecuencia de 4,82% y al de Elhag y Omer (2012) en Sudán que fue de 21,1%.

Los sueros pacientes entre 12 a 17 años presentaron una frecuencia de anticuerpos IgM anti-*H. pylori* de 83,4% con respecto de las demás edades en el Grupo 2 y la frecuencia de anticuerpos IgM contra *H. pylori* encontrada en el sexo femenino fue de 79,3% y en el masculino fue de 53%, en cambio, en el estudio de Elhag y Omer (2012) en Sudán fue de 16,7% en el sexo femenino y 4,4% en el sexo masculino. Se encontró relación estadísticamente significativa ( $p=0,000$ ) entre el sexo y la frecuencia de anticuerpos IgM anti-*H. pylori*.

Los anticuerpos IgM, constituyen parte de la respuesta humoral primaria y sus niveles se elevan aproximadamente al quinto día luego de la exposición a la bacteria. Sin embargo, la utilidad diagnóstica de anticuerpos IgM anti-*H. pylori* parece ser limitada, debido a que los macrófagos que actúan como células presentadoras de antígeno no resisten el ácido clorhídrico, por lo que se ve impedida la fagocitosis para eliminar a la bacteria. Esto hace que los anticuerpos no sean lo suficientemente efectivos para controlar la invasión bacteriana, por lo que la respuesta inmune produce un aumento transitorio de los títulos de anticuerpos en fase inicial de la infección, descendiendo durante la colonización y en una posterior recolonización <sup>(30)</sup>. En este estudio, la frecuencia de anticuerpos IgM anti-*H. pylori* fueron elevados, y los pacientes positivos para esta prueba probablemente presentaban una infección en etapa inicial.

En el Grupo 3 de estudio, los sueros de pacientes que presentaron positividad para ambas pruebas de ELISA IgG y ELISA IgM fue de 55,3%, sin embargo, nuestro estudio fue diferente al de Elhag y Omer (2012) en Sudán que fue de 16,7%. Se observó que los sueros pacientes entre 18 a 29 años presentaron una frecuencia de anticuerpos IgG e IgM anti-*H. pylori* de 60,9% con respecto de las demás edades, también el sexo femenino tuvo una frecuencia de anticuerpos IgG e IgM anti-*H. pylori* de 56,3%, y el masculino de 54,2%. Sin embargo, en el estudio

de Elhag y Omer (2012) en Sudán fue de 23,6% en el sexo femenino y 5,7% en el sexo masculino.

El 71,5% del grupo 1, el 68,8% del grupo 2 y el 55,3% del grupo 3 fueron positivos a las pruebas de ELISA IgG y ELISA IgM; se puede aumentar dicho resultado, implementando el dosaje de anticuerpos IgA anti-*H. pylori* mediante prueba de ELISA. Los anticuerpos de la clase IgA están implicado en la respuesta inmune a nivel local, jugando un papel importante como primera línea de defensa ya que neutraliza el antígeno con el objetivo de impedir la infección, por lo que su elevación en suero indica un grado más severo de inflamación de la mucosa <sup>(30)</sup>.

Actualmente no existe un sólo método de diagnóstico que sea considerado como *Gold estándar* <sup>(10)</sup>, pero en los pacientes con sangrado de úlceras, atrofia gástrica y el consumo reciente o actual de los Inhibidores de la bomba de protones y antibióticos, la prueba utilizada como diagnóstico es la serología, debido a que es más sensible a comparación de las otras pruebas invasivas y no invasivas <sup>(12)</sup>.

El estudio utilizó las pruebas de ELISA indirecta que determinaron los anticuerpos de tipo IgG e IgM, sin embargo, el estudio no se incluyó métodos de diagnóstico directo para la confirmación del diagnóstico del paciente.

La frecuencia en los resultados positivos a los anticuerpos IgG anti-*H. pylori* encontrada en el presente estudio, se encuentra dentro de los valores reportados en el Perú <sup>(7)</sup>, sin embargo, no hay reportes sobre los anticuerpos IgM anti-*H. pylori* que se comparen con los resultados del presente estudio.

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. CONCLUSIONES

- La frecuencia de anticuerpos IgG contra *H. pylori* detectados mediante la prueba de ELISA IgG en los sueros de pacientes del Grupo 1, que acudieron a la Clínica Privada “Suiza Lab” en el periodo junio-julio del 2015 fue de 71,5%.
- No existe relación estadísticamente significativa entre el sexo y el grupo etario con la frecuencia de anticuerpos IgG anti-*H. pylori* del Grupo 1.
- La frecuencia de anticuerpos IgM contra *H. pylori* detectados mediante la prueba de ELISA IgM en los sueros de pacientes del Grupo 2, que acudieron a la Clínica Privada “Suiza Lab” en el periodo junio-julio del 2015 fue de 68,8%.
- Existe relación estadísticamente significativa entre el sexo y la frecuencia de anticuerpos IgM anti-*H. pylori* del Grupo 2.
- No existe relación estadísticamente significativa entre el grupo etario y la frecuencia de anticuerpos IgM anti-*H. pylori* del Grupo 2.
- La frecuencia de anticuerpos IgG e IgM contra *H. pylori* detectados mediante la prueba de ELISA IgG y ELISA IgM en los sueros de pacientes del Grupo 3, que acudieron a la Clínica Privada “Suiza Lab” en el periodo junio-julio del 2015 fue de 55,3%.
- El sexo femenino y el masculino del Grupo 3 tuvieron una similar frecuencia de anticuerpos IgG e IgM anti-*H. pylori*.
- No se observó relación entre la frecuencia de anticuerpos IgG e IgM anti-*H. pylori* con el grupo etario del Grupo 3.
- El grupo etario de 30 a 59 años tuvo una mayor frecuencia de anticuerpos IgG e IgM anti-*H. pylori* con respecto a los resultados positivos del Grupo 1, Grupo 2 y Grupo 3.

## 5.2. RECOMENDACIONES

- Evaluar la infección de *H. pylori* en nuestra población, y su relación con los pacientes de cáncer gástrico.
- Desarrollar algoritmo para el diagnóstico de *H. pylori* con la finalidad de tener un diagnóstico temprano y un tratamiento oportuno.
- Se debe realizar seguimiento a los pacientes antes y después del tratamiento para determinar los niveles de anticuerpos IgA, IgG e IgM que se detectan en la infección aguda y crónica, o reinfección de esta bacteria, apoyada por otras pruebas como el test de aliento para dar mejor diagnóstico al paciente.
- Determinar la utilidad diagnóstica de las pruebas serológicas evaluadas en este estudio y compararlas con métodos más sensibles y específicos como la detección de PCR en biopsia gástrico.
- Hacer un programa de prevención en salud en los diferentes grupos etarios para disminuir los casos de infección por *H. pylori* y reducir el riesgo de contraer el cáncer gástrico.

## **CAPÍTULO VI**

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. López Vidal Y; Ponce de León, S. Reflexiones a proposito del Premio Nobel, el *Helicobacter pylori*, la úlcera péptica y los paradigmas científicas. Revista de Investigación Clínica. 2006; 58(1):6-8.
2. Ramírez Ramos, A; Sánchez Sánchez, R. *Helicobacter Pylori* y Cáncer Gástrico. Rev Gastroenterol Perú. 2008; 28: 258-266.
3. Go M. Natural history and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Alimentary Pharmacology & Therapeutics. 2002; 16:3-15.
4. Loo ADumitraşcu D. *Helicobacter pylori* Infection, Gastric Cancer and Gastropanel. Romanian Journal of Internal Medicine. 2016; 54(3).
5. Ahn HJ, Lee DS. *Helicobacter pylori* in gastric carcinogenesis. Mundial J Gastrointest Oncol 2015; 7 (12): 455-465
6. Ramírez Ramos ASánchez Sánchez R. *Helicobacter pylori* 25 años después (1983 -2008): Epidemiología, Microbiología, Patogenia, Diagnóstico y Tratamiento. Rev Gastroenterol Perú. 2009; 29-2:158-170.
7. Hadad Arrascue F, Diaz Ledesma L, Ramos Tavera R, Ancajima Tineo J, Chero Cabrera J. Prevalencia de serología positiva para *Helicobacter pylori* en trabajadores de una refinería de zinc. Rev Med Hered. 2004; 15(3):151.
8. Mitchell H, Katelaris P. Epidemiology, clinical impacts and current clinical management of *Helicobacter pylori* infection. Med J Aust. 2016; 204 (10):376-380.
9. Mentis A, Lehours P, Megraud F. Epidemiology and Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. John Wiley & Sons Ltd, Helicobacter 20 (Suppl 1). 2015:1–7.
10. Tongtawee T, Kaewpitoon S, Kaewpitoon N, Dechsukhum C, Leeansaksiri W, A Loyd R et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection. Asian Pac J Cancer Prev. 2016; 17(4):1631-1635.
11. Lopes A, Vale F, Oleastro M. *Helicobacter pylori* infection-recent developments in diagnosis. World J Gastroenterol. 2014; 20(28):9299-9313.
12. Wang Y, Kuo F, Liu C, et al.. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: Current options and developments. World Journal of Gastroenterology. 2015;21(40):11221.
13. Espinoza J, Ramos D, Vargas M. Prevalencia de anticuerpos de *Helicobacter pylori* en niños de 0 a 5 años de edad en el AA.HH. Pampas de San Juan de Miraflores. Tesis para licenciatura en tecnología médica presentada en el año 1997. Biblioteca Central de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.
14. Alvarez A., Arrieche D, Cala E, Aristimuño L, Rodríguez R. Diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori* en niños y adolescentes mediante determinación de IgG. Rev. Soc. Ven. Microbiol.,2002 Jul;22(2):122-127.



15. Łaszewicz W, Iwańczak F, Iwańczak B. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in Polish children and adults depending on socioeconomic status and living conditions. *Advances in Medical Sciences*. 2014;59(1):147-150.
16. Dattoli V, Veiga R, Da Cunha S, Pontes-de-Carvalho L, Barreto M, Alcântara-Neves N. Seroprevalence and Potential Risk Factors for *Helicobacter pylori* Infection in Brazilian Children. *Helicobacter*. 2010;15(4):273-278.
17. Alvarado-Esquivel C. Seroepidemiology of *helicobacter pylori* infection in pregnant women in rural durango, Mexico. *Int J Biomed Sci*. 2013; 9(4):224–229.
18. Alvitres Castillo, L.A. Prevalencia de *Helicobacter pylori* en pacientes de 3 a 14 años de edad, Hospital Nacional Daniel Alcides Carrión, Callao, 2008. Trabajo de Investigación para optar el título de la especialidad en Patología Clínica en el año 2009. Biblioteca Central de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Medicina Humana.
19. Lange K, Matta V, Nave F, Alvarado V, Camó M, Donis E., ... & Serrano A. Frecuencia de anticuerpos IgM e IgG anti *Helicobacter pylori* en estudiantes, personal docente y administrativo de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. *Rev. cient.(Guatem.)* 2011;20(1):96-101.
20. Cifuentes G, Silvestre Y, Lange K, Matta V. Frecuencia de anticuerpos IgG anti *Helicobacter pylori* en expendedores de alimentos de la ciudad universitaria zona 12, *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia*, ISSN-e 2224-5545, 2012; 22(1):24-29.
21. Elhag WI, Omer Ali LE, Frequency of *H. pylori* Antibodies among Patients with Gastrointestinal Symptoms Attending Khartoum Teaching Hospital- Sudan. *SOJ Microbiol Infect Dis*. 2014; 2(1): 5.
22. Kim H, Kim N, Kim S, Seo J, Park E, Lee D. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* Infection in Korean Health Personnel. *Gut and Liver*. 2013;7(6):648-654.
23. Romo González Coria Jiménez V. *Helicobacter pylori*, un modelo de bacteria carcinogénica. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas*. 2010; 15(4):242-251.
24. Kao C, Sheu B, Wu J. *Helicobacter pylori* infection: An overview of bacterial virulence factors and pathogenesis. *Biomedical Journal*. 2016;39(1):14-23.
25. Suárez Guerrero J, Reyes Vera G, Herreros Rosas L. *Helicobacter pylori*: revisión de los aspectos fisiológicos y patológicos. *MéD UIS*. 2011; 24(3):287-96.
26. Robinson K, White J, Winter J. Differential inflammatory response to *Helicobacter pylori* infection: etiology and clinical outcomes. *JIR*. 2015;137.
27. Salama N, Hartung M, Müller A. Life in the human stomach: persistence strategies of the bacterial pathogen *Helicobacter pylori*. *Nat Rev Microbiol*. 2013; 11(6):385–399.

28. Sánchez-Zauco N, Giono-Cerezo S, Maldonado-Bernal C. Receptores tipo Toll, patogénesis y respuesta inmune a *Helicobacter pylori*. Salud Pública de México. 2010;52(5).
29. Cervantes García E, García-González R. *Helicobacter pylori* y la respuesta inmune. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab. 2015; 62(2):112-118.
30. Benito Zúñiga M, Hornquist Hurtarte N, Maldonado Rivera E, Camó Ordóñez M. Identificación de las pruebas más sensibles y específicas para el diagnóstico de *Helicobacter pylori* pre y post tratamiento en pacientes dispépticos. Tesis para optar al título de químicos biólogos en el año 2013. Universidad de San Carlos de Guatemala, facultad de ciencias químicas y farmacia.
31. Bermúdez Díaz L, Torres Domínguez E, Rodríguez González B. Métodos para la detección de la infección por *Helicobacter pylori*. Rev cubana med. 2009; 48(1).

## **CAPÍTULO VII**

### **ANEXOS**

# ANEXOS

## ANEXO N° 01 FICHA DE REPORTE DE RESULTADOS



ORDEN :  
PACIENTE :  
COMPAÑIA :

FHC ORDEN : 14/06/2015 04:44:28 p.m.

SEXO : FEMENINO

EDAD : \_\_\_\_ años

Examen	Resultado	Unidades	Valores de refer.
<b>Sección: INMUNOLOGIA</b>			
<b>HELICOBACTER PYLORI IgG</b>	EIA (Enzimo-	83.2	U / ml
Fecha de validación: 17/03/2015 02:32:26 p.m.			
<35 : NEGATIVO			
35 - 50 : INDETERMINADO			
>50 : POSITIVO			
<b>HELICOBACTER PYLORI IgM</b>	EIA (Enzimo-	61.2	U/mL
Fecha de validación: 17/03/2015 02:32:26 p.m.			
< 20.0 : NEGATIVO			
20 - 30 : INDETERMINADO			
>= 30.0 : POSITIVO			

FIRMA DEL RESPONSABLE

**ANEXO N° 02**  
**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

**“FRECUENCIA DE ANTICUERPOS IgG E IgM CONTRA *Helicobacter pylori* EN  
LOS PACIENTES QUE ACUDEN A LA CLÍNICA PRIVADA “SUIZA LAB” EN  
EL PERIODO JUNIO-JULIO 2015”**

Edad: \_\_\_\_\_años

Sexo:      1. Masculino ( )      2. Femenino ( )

Resultados:

IgG : \_\_\_\_\_ U/mL

IgM: \_\_\_\_\_ U/mL

**Valores referenciales:**

**IgG**

<35: Negativo

35 – 50: Indeterminado

>50: Positivo

**IgM**

<20: Negativo

20 – 30: Indeterminado

>30: Positivo

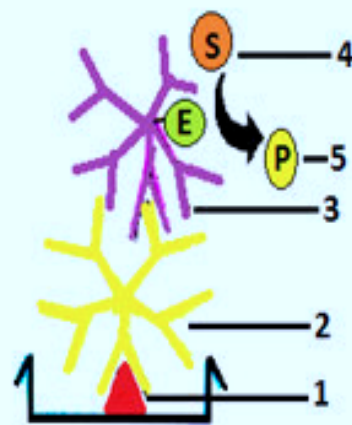
**ANEXO N° 03**  
**REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DEL ELISA IgG Y ELISA IgM**  
**anti-*H. pylori***

**ELISA IgG**




1. Antígeno de interés
2. Anticuerpo IgG anti-*H. pylori* (suero)
3. Anticuerpo secundario IgG anti-humano conjugado con fosfatasa alcalina
4. Sustrato (para-nitrofenilfosfato)
5. Producto coloreado (para-nitrofenol)

**ELISA IgM**



1. Antígeno de interés
2. Anticuerpo IgM anti-*H. pylori* (suero)
3. Anticuerpo secundario IgM anti-humano conjugado con fosfatasa alcalina
4. Sustrato (para-nitrofenilfosfato)
5. Producto coloreado (para-nitrofenol)

ANEXO N° 04  
INSERTO DEL KIT COMERCIAL

  
virion\serion

Hersteller  
Manufacturer  
Fabricant  
Fabbricante  
Fabricante  
Κατασκευαστής  
Výrobce  
Producent  
Производитель

Institut Virion\Serion GmbH  
Институт Вирион\Серион ООО


Friedrich-Bergius-Ring 19  
Кольцевая ул. Фридриха Бергиуса 19

D - 97076 Würzburg, Germany  
D - 97076 Вюрцбург, Германия  
Tel./Телефон: +49 (0) 9 31 / 30 45 0  
Fax/Факс: +49 (0) 9 31 / 30 45 100

E-Mail/Эл. почта: [dialog@virion-serion.de](mailto:dialog@virion-serion.de)  
Internet/Интернет: [www.virion-serion.de](http://www.virion-serion.de)

SERION ELISA classic Helicobacter pylori IgA/IgG/IgM



YOUR  
GLOBAL  
PARTNER  
IN  
DIAGNOSTICS

  
virion\serion

## SERION ELISA classic

### Helicobacter pylori IgA/IgG/IgM

Gebrauchsanweisung - Deutsch  
Instructions - English  
Mode d'emploi - Français  
Istruzioni per l'uso - Italiano  
Instrucciones de empleo - Español  
Instruções de emprego - Português  
Οδηγίες χρήσης - Ελληνικά  
Pokyny - Český  
Instrukcja - Polski  
Инструкция по применению - русский язык

Version/ Versione/ Versión/ Versão/ Έκδοση/  
Verze/ Versja/ версия 118.14

AAL118

06/2015

## SERION ELISA *classic* Helicobacter pylori IgA/IgG/IgM

### Enzimoinmunoensayo para la determinación de anticuerpos humanos Para uso diagnóstico *in vitro*

SERION ELISA <i>classic</i> Helicobacter pylori IgA	Nº de pedido:	ESR118A
SERION ELISA <i>classic</i> Helicobacter pylori IgG	Nº de pedido:	ESR118G
SERION ELISA <i>classic</i> Helicobacter pylori IgM	Nº de pedido:	ESR118M

#### 1 USO PREVISTO

Las pruebas de SERION ELISA *classic* Helicobacter pylori IgA, IgG e IgM son inmunoensayos cuantitativos y cualitativos para la detección de anticuerpos humanos en suero o plasma dirigidos frente a *Helicobacter pylori*. La detección por separado de clases de inmunoglobulinas individuales ofrece una confirmación del contacto con el patógeno y la determinación del estado de la enfermedad.

#### 2 PERTINENCIA DIAGNÓSTICA

*Helicobacter pylori* es una bacteria gram negativa con forma en espiral de gran motilidad debido a que posee hasta siete flagelos. La identificación microbiológica se basa en resultados positivos en pruebas de urea, catalasa y oxidasa así como en la ausencia de hidrólisis de hipurato y de nitrato reductasa.

*Helicobacter pylori* es un organismo muy específico del hospedador. Otras especies de *Helicobacter* pueden encontrarse en una amplia variedad de mamíferos como los gatos, perros, cerdos y ratones.

Las diferencias fenotípicas entre aislados de *H. pylori* se refieren exclusivamente a la expresión/no expresión de citotoxina vacuolar (VacA) y una segunda toxina que está codificada por un gen asociado a la citotoxina (CagA). Se pueden distinguir cepas virulentas (Tipo I) y no virulentas (Tipo II) de *Helicobacter* basándose en estas diferencias fenotípicas.

Los pacientes con úlceras duodenales son infectados con mayor frecuencia por cepas de *H. pylori* del Tipo I que expresan VacA y CagA. Existen, sin embargo, estudios que consideran que es improbable una relación causal entre la infección por *Helicobacter* y el síndrome asociado de cáncer de estómago debido a cepas de *Helicobacter* productoras VacA y CagA.

El mecanismo de transmisión de *H. pylori* de una persona a otra aún no ha sido explicado por completo. La literatura publicada considera probables la vía oral-oral y fecal-oral. Las infecciones por *H. pylori* se divide en dos grupos distintos de agudas y crónicas, pudiéndose atribuir del 80 al 90% de los casos de gastritis a una infección por *H. pylori*.

Las enfermedades asociadas con las infecciones por *H. pylori* (es decir aquellas que pueden ser atribuidas a una gastritis inducida por *H. pylori*) son la úlcera duodenal (95 %), úlcera ventricular (90 %) y el linfoma TLAM (tejido linfático asociado a mucosas) (60-



70 %). Los individuos que padecen infecciones crónicas de *Helicobacter pylori* tienen un riesgo seis veces mayor de desarrollar linfoma TLAM en comparación a los individuos sanos.

Se puede distinguir entre los métodos no invasivos y los invasivos en el diagnóstico de las infecciones por *H. pylori*. Procedimientos invasivos son la histología, la prueba rápida de ureasa (p.ej. la prueba CLO), técnicas microbiológicas como el cultivo y los análisis biológicos moleculares (PCR). La prueba del aliento con urea C<sup>13</sup> y las pruebas serológicas pertenecen al grupo de métodos no invasivos.

Las recomendaciones europeas para tratamiento de las infecciones por *Helicobacter pylori* fueron constituidas por el grupo de estudios europeo sobre *Helicobacter pylori* (European *Helicobacter pylori* Study Group, EHPSG) en la "Conferencia de consenso de Maastricht" en 1997. Se recomendó una terapia de erradicación, la "triple terapia", para todos los pacientes con úlcera positivos para *H. pylori*. Además todos los pacientes dispépticos menores de 45 años y sin síntomas de distrés deben ser examinados con métodos no invasivos tales como la serología y, en caso de resultados positivos, también deben recibir tratamiento.

La detección de anticuerpos séricos se puede utilizar para el control terapéutico después del tratamiento de erradicación. En este caso debe haber un período de por lo menos seis meses antes del inicio de dichas medidas de control del título de anticuerpos para garantizar que se puedan detectar cambios significativos en los títulos. Particularmente en el caso de la IgG, se debe tener en cuenta la posibilidad de persistencia durante meses o años y esto pone limitaciones a la información obtenida a partir de métodos de control puramente serológicos. Se recomienda la prueba no invasiva de urea C<sup>13</sup> en el aliento para un control adicional.

Las infecciones asociadas a *Helicobacter* deben contemplarse en clara relación a la edad de los pacientes. La prevalencia por década de vida aumenta al 10 % en las regiones industrializadas de Norteamérica y Europa central. La prevalencia total de la población en esa zona es del 40 %.

### **3 PRINCIPIO DE LA PRUEBA SERION ELISA *classic***

La prueba ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay, análisis de inmunoabsorción ligado a enzimas) es un inmunoensayo, que es particularmente apropiado para la determinación de anticuerpos en el campo de la serología infecciosa. La reacción se basa en la interacción específica de anticuerpos con su antígeno correspondiente. Las tiras reactivas de la placa de microtitulación de SERION ELISA *classic* se recubren con antígenos específicos del agente patógeno de interés. Si los anticuerpos en la muestra de suero del paciente están presentes, se unen al antígeno fijado. Un anticuerpo secundario, que se ha conjugado con la enzima fosfatasa alcalina, detecta y se une al complejo inmune. El sustrato incoloro p-nitrofenolfosfato se convierte entonces en el producto coloreado p-nitrofenol. La intensidad de la señal de este producto de reacción es proporcional a la concentración del analito en la muestra y se mide fotométricamente.

#### 4 COMPONENTES DEL KIT

Componentes de la prueba	partes / Volumen
<b>Pocillos de microtitulación en tiras separables, cada una de ellas con ocho pocillos individuales recubiertos de antígeno</b> (En total son 96) <b>[MTP]</b> , 1 bastidor. El material de recubrimiento está inactivado.	12 partes
<b>Suero patrón (listo para usar) <b>[STD]</b></b> , Suero humano en tampón fosfato que contiene proteína; negativo para Ac anti-VIH, Acs HB (HBs-Ag, antígeno de superficie del virus de la hepatitis B) y Ac anti-VHC; conservante: azida sódica < 0,1 %; colorante: Amaranto O.	2 x 2 ml
<b>Suero control negativo (listo para usar) <b>[NEG]</b></b> , Suero humano en tampón fosfato que contiene proteína; negativo para Ac anti-VIH, Acs HB (HBs-Ag, antígeno de superficie del virus de la hepatitis B) y Ac anti-VHC; conservante: azida sódica < 0,1 %; colorante: Verde Lissamin Green V.	2 ml
<b>Conjugado FA de IgA, IgG o IgM anti-humana (listo para usar) <b>[APC]</b></b> , Anticuerpo policlonal IgA, IgG o IgM anti-humano, conjugado con fosfatasa alcalina, estabilizado con solución que contiene proteínas; conservante: metilisotiazolona al 0,01 %, bromonitrodioxano al 0,01 %.	13 ml
<b>Concentrado de dilución de lavado (suficiente para 1000 ml) <b>[WASH]</b></b> , Solución de cloruro de sodio con Tween 20 y 30 mM Tris/HCl, pH 7,4; conservante: azida sódica < 0,1 %.	33,3 ml
<b>Solución amortiguadora de dilución <b>[DILE]</b></b> , Tampón fosfato con Tween 20 que contiene proteína; conservante: azida sódica < 0,1 %; colorante: 0,01 g/l de azul de bromofenol.	2 x 50 ml
<b>Solución de parada <b>[STOP]</b></b> , hidróxido de sodio 1,2 N.	15 ml
<b>Sustrato (listo para usar) <b>[pNPP]</b></b> , Para-nitrofenilfosfato en solución amortiguadora sin disolvente; conservante: azida sódica < 0,1 % (¡El sustrato en un frasco sin abrir puede tener una coloración ligeramente amarilla, lo que no reduce la calidad del producto!)	13 ml
<b>Certificado de control de calidad con curva patrón y tabla de evaluación <b>[INFO]</b></b> , (cuantificación de anticuerpos en UI/ml o U/ml).	2 páginas

## **5 MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO**

- equipo habitual de laboratorio
- Para la detección de IgM: Absorbente Rf SERION, nº de pedido Z200 (20 ml)
- fotómetro para placas de microtitulación con filtro, longitud de onda 405 nm, longitud de onda de referencia recomendada 620 nm - 690 nm (p.ej., 650 nm)
- incubador a 37 °C
- cámara de humectación
- agua destilada
- Clips de cierre por presión (Click-Clips, nº de pedido VT120)



## 6 CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Reactivo	Conservación	Estabilidad
Tiras de microtitulación (recubiertas con antígeno)	sin abrir  tras la apertura entre 2 – 8 °C en una bolsa de aluminio cerrada con desecante  <i>Las tiras que no se utilizan se deben conservar secas en la bolsa de aluminio cerrada.</i>	ver fecha de caducidad;  periodo de conservación mínimo: cuatro semanas;  periodo de conservación en caso de utilización y conservación adecuadas hasta la fecha de caducidad
Sueros control / Sueros patrón	tras la apertura entre 2 – 8 °C	ver fecha de caducidad; 24 meses desde su producción
Conjugado	solución lista para usar entre 2 – 8 °C <i>Evite la contaminación p.ej., utilizando puntas estériles.</i>	ver fecha de caducidad; 28 meses desde su producción
Solución amortiguadora de dilución	Sin abrir  tras la apertura entre 2 – 8 °C  <i>Deseche las soluciones turbias.</i>	ver fecha de caducidad; 36 meses desde su producción; 24 meses
Solución de lavado	Concentrado tras la apertura entre 2 – 8 °C dilución de trabajo entre 2 – 8 °C dilución de trabajo a temperatura ambiente  <i>Los frascos utilizados para la dilución de trabajo se deben limpiar regularmente. Deseche las soluciones turbias.</i>	ver fecha de caducidad; 2 semanas; 1 semana
Sustrato	solución lista para usar entre 2 – 8 °C, conservar protegida de la luz  <i>Evite la contaminación p.ej., utilizando puntas estériles.</i>  <i>Desechar si la solución se vuelve amarilla (extinción frente al agua destilada &gt; 0,25 DO).</i>	ver fecha de caducidad;  36 meses desde su producción
Solución de parada	Tras la apertura a temperatura ambiente	ver fecha de caducidad

## 7 PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA SERION ELISA *classic*

### 7.1 Evidencia de deterioro

Utilice únicamente reactivos SERION ELISA *classic* al utilizar inmunoensayos SERION ELISA *classic*. Los componentes no deben intercambiarse con reactivos de otros fabricantes. Los sueros patrón y control de los inmunoensayos SERION ELISA *classic* immunoassays están definidos exclusivamente para el kit de pruebas que se va a utilizar y no deben utilizarse en otros lotes. La solución amortiguadora de dilución, la solución de lavado, el sustrato y la solución de parada se pueden utilizar para todos los inmunoensayos SERION ELISA *classic* independientemente del lote y de la prueba.

Existen tres concentraciones de conjugado diferentes para cada clase de inmunoglobulina: BAJO, MEDIO, ALTO. La clasificación aparece escrita en cada etiqueta como sigue:

p.ej.	IgG +	Conjugado de IgG de baja concentración
	IgG ++	Conjugado de IgG de media concentración
	IgG +++	Conjugado de IgG de alta concentración

En raros casos es necesaria la utilización de un conjugado especial para garantizar una calidad constante de nuestros productos. Los conjugados especiales se producen en un lote por separado y no llevan el signo "+" y no son intercambiables con otros conjugados.

¡Preste mucha atención a la información de las etiquetas!

Si no han sido abiertos, todos los componentes de las pruebas SERION ELISA *classic* pueden, si se conservan como corresponde, ser utilizados hasta las fechas de caducidad proporcionadas en las etiquetas. Los reactivos no se pueden utilizar después de la fecha de caducidad.

La dilución o alteración de los reactivos puede dar como resultado una pérdida de sensibilidad.

Evite la exposición de los reactivos a la luz intensa durante la conservación e incubación. Los reactivos deben estar firmemente cerrados tras su uso para evitar evaporación y contaminación.

Para abrir la bolsa de aluminio de la placa de microtitulación, corte la parte superior del lado marcado únicamente, para garantizar poder cerrarla de nuevo adecuadamente. No utilice las tiras si la bolsa de aluminio está dañada o si la bolsa con las tiras restantes y el desecante no ha sido cerrada de nuevo adecuadamente.

Utilice técnicas asépticas al retirar alícuotas de los tubos de reactivos para evitar la contaminación. Para evitar resultados falsos positivos, asegúrese de no entrar en contacto o salpicar las paredes superiores de los pocillos mientras se pipetea el conjugado. Tenga cuidado para no mezclar los tapones de los frascos y/o viales.

La reproducibilidad de los resultados de las pruebas es dependiente de una mezcla a fondo de los reactivos. Agite los matraces que contienen sueros control antes de usar también todas las muestras tras la dilución (por ejemplo, utilizando un mezclador de vórtice).

Asegúrese de pipetear con cuidado y respetar los tiempos y temperaturas de incubación proporcionados. Diferencias significativas de tiempos entre el pipeteo del primer y el último pocillo de la placa de microtitulación al dispensar muestras de sueros control, conjugado o sustrato pueden dar como resultado diferentes tiempos de preincubación, lo que puede influir en la precisión y reproducibilidad de los resultados.

Solamente se pueden lograr resultados óptimos si se siguen estrictamente las instrucciones.

El inmunoensayo SERION ELISA *classic* es válido únicamente si se cumplen los criterios de validación específicos del lote en el certificado de control de calidad.

Un lavado adecuado evita la falta de especificidad de la prueba. Por lo tanto, el procedimiento de lavado se debe llevar a cabo cuidadosamente. Todos los pocillos de fondo plano se deben rellenar con volúmenes iguales de solución amortiguadora de lavado. Al final del procedimiento asegúrese de que los pocillos no tienen nada de solución amortiguadora de lavado para evitar efectos de dilución no controlados. ¡Evite la formación de espuma!

Tenga cuidado para no dañar la inscripción (patógeno / clase de anticuerpo) en las tiras de prueba de microtitulación durante el lavado y aspiración para evitar confusiones.

## 7.2 Preparación y conservación de la muestra

Las muestras lipémicas, hemolíticas o ictericas (Suero o plasma) únicamente deben analizarse con precaución. No se deben realizar pruebas de muestras evidentemente contaminadas. El suero o plasma (EDTA, citrato, heparina) recogido de acuerdo con métodos normalizados de laboratorio son muestras apropiadas. Las muestras no deben estar inactivadas por temperatura.

### 7.2.1 Dilución de muestras

Antes de efectuar el análisis, las muestras del paciente ( $V_1$ ) se deben diluir en solución amortiguadora ( $V_2$ ) como sigue:

#### SERION ELISA *classic* *Helicobacter pylori* IgA/IgG

$V_1 + V_2 = 1+100$	añadir	10 µl	de la muestra del paciente
	a	1000 µl	solución amortiguadora de dilución

Tras la dilución y antes de pipetear a la placa de microtitulación, se deben mezclar a fondo las muestras para preparar una solución homogénea.

## SERION ELISA *classic* Helicobacter pylori IgM

### Interferencia con factores reumatoides

Los factores reumatoides son autoanticuerpos, principalmente de la clase de las IgM, que se unen preferiblemente a complejos inmunes de IgG. La presencia de anticuerpos IgM no específicos (factores reumatoides) puede conducir a resultados falsos positivos en el inmunoensayo de IgM. Además, existe la posibilidad de que anticuerpos específicos de patógenos de baja afinidad de unión a IgM, puedan quedar desplazados por anticuerpos de mayor afinidad de unión a IgG conduciendo a un resultado falso negativo para IgM. Por lo tanto es necesario tratar previamente las muestras con un absorbente de factor reumatoide antes de la detección de IgM. (absorbente de factor reumatoide SERION, N° de pedido: Z200 (20 ml/100 pruebas)). La absorción Rf se realizará mediante incubación de la muestra del paciente en solución amortiguadora de dilución Rf durante 15 minutos a temperatura ambiente o durante la noche a 4 °C. El procedimiento de la prueba se describe en un manual de instrucciones por separado.

Antes de efectuar el análisis, el material absorbente del factor reumatoide (V<sub>1</sub>) se debe diluir 1+4 en solución amortiguadora (V<sub>2</sub>).

V <sub>1</sub> + V <sub>2</sub> = V <sub>3</sub> (1 + 4)	añadir	200 µl	Material absorbente de Rf
	a	800 µl	solución amortiguadora de dilución

Las muestras del paciente (V<sub>4</sub>) se deben diluir en esta solución amortiguadora de dilución Rf (V<sub>3</sub>):

V <sub>4</sub> + V <sub>3</sub> = 1+100	añadir	10 µl	de la muestra del paciente
	a	1000 µl	solución amortiguadora de dilución Rf

Tras la dilución y antes de pipetear a la placa de microtitulación, se deben mezclar a fondo las muestras para preparar una solución homogénea.

### 7.2.2 Conservación de las muestras

Las muestras del paciente no se deben conservar durante más de 7 días a 2 – 8 °C. Es posible ampliar la conservación a ≤ -20 °C. Evite la congelación y descongelación repetida de las muestras. Las muestras diluidas se pueden almacenar a 2 – 8 °C durante una semana.

### 7.3 Preparación de reactivos del kit

Lleve todos los reactivos hasta la temperatura ambiente antes de realizar las pruebas.

#### 7.3.1 Tiras de prueba de microtitulación

Las tiras de pruebas de microtitulación han sido envasadas junto con un desecante en una bolsa de aluminio. Extraiga del bastidor los huecos no necesarios y póngalos dentro de la bolsa de aluminio. Cierre cuidadosamente la bolsa para garantizar condiciones herméticas.

#### 7.3.2 Sueros control / sueros patrón

Los sueros control y patrón están listos para usar y no se deben diluir más. Para cada ejecución de las pruebas – independientemente del número de tiras de pruebas de microtitulación que se vayan a utilizar- se deben incluir los sueros control y patrón. Los sueros control deberán configurarse por duplicado.

No trate los sueros control con material absorbente de Rf.

#### 7.3.3 Conjugado FA de IgA, IgG o IgM anti-humana (listo para usar)

Los conjugados con la misma concentración y de la misma clase de inmunoglobulinas son intercambiables. Evite la contaminación de los conjugados listos para usar p.ej., utilizando puntas estériles.

#### 7.3.4 Solución de lavado

Diluya concentrado de solución amortiguadora de lavado ( $V_1$ ) 1:30 con agua destilada hasta un volumen final de  $V_2$ .

Ejemplo:

Concentrado de solución amortiguadora ( $V_1$ )	Volumen final ( $V_2$ )
33,3 ml	1.000 ml
1,0 ml	30 ml

#### 7.3.5 Solución amortiguadora de dilución para muestras (lista para usar)

#### 7.3.6 Sustrato (listo para usar)

Evite la contaminación de la solución de sustrato lista para usar p.ej., utilizando puntas estériles.

#### 7.3.7 Solución de parada (lista para usar)



#### 7.4 Visión general - procedimiento de la prueba

##### SERION ELISA *classic* Helicobacter pylori IgA/IgG/IgM cuantitativo

En caso de IgM detección absorción de factor reumatoide, ver Nº 7.2.1;  
Incubación 15 minutos a temperatura ambiente o durante la noche a 4°C

dilución de la muestra<sup>1</sup>  
(muestras del paciente)  
1+100

Pipetear muestras diluidas y control listo para usar/  
sueros patrón en los pocillos de micro análisis (100 µl)

↓  
INCUBACIÓN 60 Min./ 37 °C  
cámara de humectación

↓  
LAVAR (4 x 300 µl [DIL] [WASH] )<sup>2</sup>

↓  
Pipetear solución conjugado [APC] (100 µl)

↓  
INCUBACIÓN 30 Min./ 37 °C  
cámara de humectación

↓  
LAVAR (4 x 300 µl [DIL] [WASH] )<sup>2</sup>

↓  
Pipetear solución sustrato [pNPP] (100 µl)

↓  
INCUBACIÓN 30 Min./ 37 °C  
cámara de humectación

↓  
Pipetear solución parada [STOP] (100 µl)

↓  
LEER EXTINCIÓN a 405 nm

<sup>1</sup>Soluciones amortiguadoras de dilución especiales para las siguientes pruebasSERION ELISA *classic*:  
Borrelia burgdorferi IgG, IgM, EBV EA IgG, Parvovirus B19 IgM y Hantavirus puumala IgG, IgM

<sup>2</sup>Para uso manual:  
Ligeros golpecitos al final del procedimiento de lavado sobre toallita de papel.

## 7.5 Procedimiento manual

1. Coloque el número necesario de pocillos en el bastidor y prepare una hoja de protocolo.
2. Añada 100 µl de muestra diluida o controles listos para usar en los pocillos apropiados de las tiras de prueba de microtitulación. Reserve un pocillo para el blanco del sustrato, p.ej.:

IgA/IgG/IgM cuantitativo	
Nº pocillo	
pocillo A1	Sustrato en blanco
pocillo B1	Control negativo
pocillo C1	Suero patrón
pocillo D1	Suero patrón
pocillo E1	1...del paciente

3. **Incubación de la muestra** durante 60 minutos (+/- 5 min) a 37 °C (+/- 1 °C) en la cámara de humectación
4. Tras la incubación **lave** todos los pocillos con solución de lavado (mediante dispositivo automatizado o manualmente):
  - aspire o agite la solución de incubación
  - Llene cada pocillo con 300 µl de solución de lavado
  - aspire o agite la solución amortiguadora de lavado
  - repita el procedimiento de lavado 3 veces (¡en total son 4 veces!)
  - séquelo dando ligeros golpecitos a la placa de microtitulación sobre una toallita de papel
5. **Adición de conjugado**  
Añada 100 µl of del conjugado listo para usar IgA/IgG/IgM a los pocillos apropiados (excepto el sustrato en blanco)
6. **Incubación del conjugado** durante 30 minutos (+/- 1 min)\* a 37 °C (+/- 1 °C) en la cámara de humectación.
7. Tras la incubación **lave** todos los pocillos con solución de lavado (ver más arriba)
8. **Adición de sustrato**  
Añada 100 µl de solución de sustrato listo para usar a cada pocillo (¡incluyendo el pocillo para el sustrato en blanco!)
9. **Incubación del sustrato** durante 30 minutos (+/- 1 min)\* a 37 °C (+/- 1 °C) en la cámara de humectación.
10. **Parada de la reacción**  
Añada 100 µl de solución de parada a cada pocillo, agite suavemente la placa de microtitulación para mezclar.
11. **Lectura de la extinción**  
Lea la densidad óptica (DO) en los siguientes 60 minutos a 405 nm frente al sustrato blanco, la longitud de onda de referencia entre 620 nm y 690 nm (p.ej., 650 nm).

\*Se advierte que bajo condiciones de trabajo especiales internas del laboratorio pueden ser necesarias adaptaciones de los tiempos de incubación.

## 7.6 Procedimiento automatizado

SERION ELISA es apto para el procesamiento en equipos automáticos y ha sido evaluado para su uso con Immunomat™ así como con DYNEX DSX<sup>®</sup> y DS2<sup>®</sup>. El proceso automatizado se realiza de manera análoga al uso manual. Se advierte que bajo condiciones de trabajo especiales internas del laboratorio pueden ser necesarias adaptaciones de los tiempos de incubación.

## 7.7 Control positivo / control de exactitud

Para la verificación periódica del método de prueba, y para satisfacer los requisitos de los sistemas de gestión de calidad internos de laboratorio, recomendamos la utilización de SERION ELISA *controls* para determinar la precisión y fiabilidad de las cargas de pruebas SERION ELISA *classic*. La utilización de SERION ELISA *controls* se describe en manuales de instrucciones específicos.

## 8 EVALUACIÓN DE LAS PRUEBAS

### SERION ELISA *classic* Helicobacter pylori IgA/IgG/IgM

#### 8.1 Cuantificación de punto simple con el método 4PL

La asignación optimizada de las señales de extinción para valores cuantitativos se garantiza mediante la utilización de funciones no lineales, que se ajustan a una curva sigmoide sin ninguna transformación adicional a valores de DO. La determinación de las concentraciones de anticuerpo con SERION ELISA *classic* se lleva a cabo mediante el modelo logarítmico logístico de cuatro parámetros (4 PL) que es ideal para un ajuste exacto de las curvas. Está basado en la fórmula:

$$DO = A + \frac{D - A}{1 + e^{B(C - \text{En Conc.})}}$$

Los parámetros A, B, C, y D son representativos para la forma exacta de la curva:

- |                          |               |
|--------------------------|---------------|
| 1. asíntota inferior     | ⇒ parámetro A |
| 2. pendiente de la curva | ⇒ parámetro B |
| 3. punto de inflexión    | ⇒ parámetro C |
| 4. asíntota superior     | ⇒ parámetro D |

Para cada lote, la curva patrón es evaluada por el Institut Virion\Serion GmbH (Würzburg, Alemania) en pruebas repetidas bajo condiciones óptimas.

No es necesaria una costosa y dilatada construcción de la curva estándar por el usuario.

Para la evaluación de concentraciones de anticuerpo se incluye una curva estándar específica del lote y también una tabla de evaluación específica del lote con cada kit de pruebas SERION ELISA *classic*. El software de evaluación SERION *evaluate*, así como el instrumento de software basado en Microsoft® Excel SERION *activity* están disponibles bajo petición.

Para compensar las variaciones normales de las pruebas y también para el control de la ejecución de las pruebas se utiliza un suero patrón en cada carga de pruebas individual. Para este suero control, se determina un valor de referencia con un intervalo de validez mediante el control de calidad del fabricante. Dentro de este intervalo está garantizada una correcta cuantificación de la concentración de anticuerpos.

## 8.2 Criterios de validez

- El blanco de sustrato debe ser  $< 0,25$  DO.
- El control negativo debe producir un resultado negativo de la prueba.
- Mediante el uso de pruebas cuantitativas SERION ELISA *classic* el valor de DO medio (¡después de restar el blanco de sustrato!) del suero patrón debe estar dentro del intervalo de validez, que se proporciona en el certificado de control de calidad específico del lote.
- La variación de valores DO del suero patrón no puede ser superior al 20 %.

Si no se cumplen estos criterios, la prueba no es válida y se debe repetir.

## 8.3 Cálculos del SERION ELISA *classic* *Helicobacter pylori* IgA/IgG/IgM

### 8.3.1 Evaluación no automatizada

Para la evaluación de la prueba SERION ELISA *classic* se incluye un certificado de control de calidad específico del lote con una curva patrón y una tabla de evaluación en el kit de pruebas de modo que los valores de DO obtenidos se pueden asignar a las correspondientes actividades de anticuerpo. El blanco de sustrato se debe restar de todos los valores de DO antes de la evaluación.

#### Método 1: Evaluación cualitativa

Para fijar los intervalos de corte multiplique el valor medio de la DO estándar medida con los datos numéricos del certificado de control de calidad (ver fórmulas de casos especiales), p.ej.:

DO =  $0,502 \times \text{PM(STD)}$  con corte superior  
DO =  $0,352 \times \text{PM(STD)}$  con corte inferior

Si el valor de absorbancia medio medido del suero patrón es 0,64 DO, el intervalo de corte está entre 0,225-0,321 DO.

## Método 2:

Determinación continua de actividades de anticuerpo utilizando la curva estándar

Las así llamadas variaciones interensayo (desviaciones de un día a otro y de un laboratorio a otro) se compensan mediante la multiplicación del valor medido actual obtenido con una muestra del paciente con el factor de corrección F. este factor se calcula como sigue:

$$F = \frac{\text{Valor de referencia DO (de suero patrón)}}{\text{Valor actual DO (de suero patrón)}}$$

El procedimiento es necesario para ajustar el nivel actual de la prueba del usuario con la curva estándar específica del lote. En primer lugar, las desviaciones diarias tienen que ser corregidas calculando el factor de corrección F.

1. Se debe calcular la media de los dos valores DO del suero patrón y comprobar que se encuentra dentro del intervalo de validez dado.
2. Cálculo del factor F: el valor de referencia dado se divide por la media de la extinción del suero patrón:  
 $F = \text{valor referencia extinción suero STD} / \text{valor medio extinción suero STD}.$
3. Todos los valores medidos de las muestras de pacientes se multiplican por F.
4. Las actividades de anticuerpo en UI/ml o U/ml se pueden determinar a partir de la curva estándar con los valores corregidos.

### 8.3.2 Evaluación automática de la prueba con el software SERION *evaluate*

Después de la entrada de los cuatro parámetros y el valor de referencia del patrón de suero, las actividades de anticuerpos se calculan en línea a partir de cargas de pruebas SERION ELISA *classic* test procesadas y medidas mediante el software de evaluación SERION *evaluate*.

Si la densidad óptica del patrón está fuera del intervalo de validez, aparecerá el siguiente mensaje.

"Valores estándar fuera de intervalos en los siguientes grupos: grupo 1-24." o

"El valor estándar difiere más del 20% en los siguientes grupos: grupo 1-24."

En estos casos la ejecución de la prueba es inválida y debe repetirse.

Los parámetros y el valor de referencia deben ser modificados únicamente si existe un cambio de lote (la tabla de evaluación muestra parámetros y valores de referencia). La entrada correcta de los datos específicos del lote se puede comprobar basándose en la actividad del suero patrón (en UI/ml o U/ml) asignada al suero patrón. El valor medio calculado de las unidades debe corresponderse con el valor unitario indicado en el certificado específico del lote. Hay una corrección automática de los valores medidos. En la versión estándar el resultado muestra lo siguiente:

Código de la muestra
Valor DO
UI/ml o U/ml
Evaluación

### 8.4 Límites de cuantificación

Los límites de cuantificación se especifican en el certificado de control de calidad de la prueba SERION ELISA *classic*. La linealidad de la dilución dentro de este intervalo ha sido demostrada en estudios de evaluación exhaustivos. En caso de que una muestra del paciente muestre un resultado de la prueba por encima del límite superior de cuantificación, se puede ensayar la prueba a una dilución mayor. La actividad de anticuerpo determinada así se debe multiplicar por el factor de dilución adicional.

### 8.5 Intervalos dudosos

Los intervalos dudosos de la prueba del SERION ELISA *classic* *Helicobacter pylori* IgA/IgG/IgM se especifican en el certificado de control de calidad e indican el intervalo para resultados dudosos de las pruebas. Los valores obtenidos, al analizar una muestra de un paciente, que caen por debajo de este intervalo indican un resultado negativo de la prueba; los valores por encima del intervalo dudoso se interpretan como positivos. En los casos en los que los resultados están dentro del intervalo dudoso no es posible una interpretación definitiva del resultado. En tales casos, se debe repetir la prueba en paralelo con una muestra de seguimiento tomada de 1 a 2 semanas más tarde (par de suero).

## 8.6 Interpretación de resultados

Resultados positivos en las pruebas de SERION ELISA *classic Helicobacter pylori* IgG, IgA e IgM indican la presencia de anticuerpos específicos dirigidos frente a *Helicobacter pylori*. Un resultado serológico positivo deberá siempre ser interpretado considerando los antecedentes del paciente y la situación clínica, puesto que un resultado positivo no distingue definitivamente entre el estado de una enfermedad actual y los anticuerpos debido a las tasas de seroprevalencia en la población general. Sin embargo, un resultado negativo indica un estado seronegativo en el paciente. En caso de sospecha clínica de una infección, dichos resultados negativos no descartan sin embargo la posibilidad de infección, puesto que la muestra puede haber sido tomada demasiado pronto para que los anticuerpos fuesen detectables. En tales casos, se deberá tomar otra muestra aproximadamente dos semanas más tarde.

La serología de *Helicobacter* no se debe realizar centrándose solamente en la detección de anticuerpos IgG puesto que la constelación de anticuerpos IgG negativo/IgA positivo se puede encontrar en del 2 al 7 % de los pacientes con infecciones agudas por *Helicobacter pylori*. Por otra parte, del 15 al 35 % de los pacientes con infecciones agudas por *Helicobacter pylori* no producen IgA específico del patógeno, haciendo que el diagnóstico sea posible únicamente mediante la detección de clases de inmunoglobulinas alternativas. Por lo tanto, la serología de ambas, IgG e IgA para *Helicobacter* se debe llevar a cabo simultáneamente. Las siguientes constelaciones de anticuerpos se pueden interpretar como sigue:

**Tabla 1: Interpretación de diversas constelaciones de anticuerpos en la serología de *Helicobacter***

IgM	IgA	IgG	interpretación
-	-	-	estado seronegativo, en caso de síntomas clínicos, se deberán tomar sueros control unas 2 semanas más tarde
+/-	-	+	estado seropositivo tras el contacto con el antígeno o infección activa con falta de respuesta a IgG,
-	-	+	seroprevalencia dependiente de la edad del paciente ("contagio")
+/-	+	+	infección activa sospechada con <i>H. pylori</i> ; patrón de reacción típico en pacientes con gastritis (activa)
+/-	+	-	Infección activa sospechada con <i>H. pylori</i> , falta de respuesta a IgG (2-7% de los casos)



## 8.7 Intervalos de referencia de individuos sanos

Las pruebas de sueros de donantes de sangre elegidos al azar, recogidos en la región del sur de Alemania, con las pruebas de SERION ELISA *classic* *Helicobacter pylori* IgA, IgG e IgM dieron como resultado la distribución siguiente. De 47 sueros ensayados con la prueba de SERION ELISA *classic* *Helicobacter pylori* IgA, 39 (83,0 %) fueron negativos, cinco sueros (10,6 %) dieron una reacción positiva y tres sueros (6,4 %) fueron considerados dudosos. De 47 sueros, 41 (87,2 %) fueron negativos cuando se ensayaron con la prueba de SERION ELISA *classic* *Helicobacter pylori* IgG, cuatro (8,5 %) sueros arrojaron un resultado positivo y dos (4,3 %) fueron evaluados como dudosos. Además, los resultados del ensayo de 47 sueros en la prueba de SERION ELISA *classic* *Helicobacter pylori* IgM fueron como sigue; 35 sueros (74,5 %) ensayados fueron negativos, seis (12,8 %) positivos y seis (12,8 %) sueros fueron de resultado dudoso.

## 9 CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

### 9.1 Sensibilidad y especificidad

#### SERION ELISA *classic* *Helicobacter pylori* IgG:

Para establecer las características de funcionamiento del SERION ELISA *classic* *Helicobacter pylori* IgG se examinaron un total de 88 sueros. De éstos, 41 eran donantes de sangre al azar y 47 sueros de pacientes con infección por *Helicobacter* sospechada por resultados de pruebas anteriores. Los sueros fueron ensayados en el SERION ELISA *classic* *Helicobacter pylori* IgG y en dos ELISA adicionales disponibles comercialmente proporcionando los siguientes datos de funcionamiento.

SERION ELISA <i>classic</i> <i>Helicobacter pylori</i> IgG	Sensibilidad	Especificidad
Datos de funcionamiento frente a ELISA 1	96,6 %	94,3 %
Datos de funcionamiento frente a ELISA 2	91,1 %	> 99 %

Además, la AFSSAPS (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé) llevó a cabo un estudio externo en Francia. Éste consistió en el examen de un total de 92 sueros. 44 de 45 muestras de pacientes con infección probada por *Helicobacter* fueron correctamente identificados por la prueba SERION ELISA *classic* *Helicobacter pylori* mientras que un suero fue identificado como dudoso. 42 de 47 muestras de suero provenientes de individuos probadamente no infectados fueron registradas como negativas, 2 como dudosas y tres sueros fueron falsos positivos. Estos resultados apoyan los resultados del estudio interno. La información detallada sobre los resultados de este estudio externo está disponible en <http://www.afssaps.fr>

### **SERION ELISA *classic* Helicobacter pylori IgA:**

Para evaluar el SERION ELISA *classic* Helicobacter pylori IgA se ensayó un total de 146 muestras. El suero grupo 1 consistió en 54 sueros de donantes de sangre al azar mientras que el suero grupo 2 contenía 87 sueros de pacientes de gastroscopia cuyas pruebas del material de biopsia resultaron positivas para ureasa (prueba CLO) y fueron caracterizados como positivos para *H. pylori* basándose en pruebas histológicas. Además, se examinaron 5 sueros de pacientes con anticuerpos frente a *Campylobacter jejuni* busca de reacciones cruzadas.

Las muestras fueron ensayadas en el SERION ELISA *classic* Helicobacter pylori IgA en comparación con cuatro pruebas ELISA adicionales disponibles comercialmente (pruebas A a D). Los resultados discrepantes (es decir, cualquier suero que no produjo el mismo resultado en al menos 4 de las 5 pruebas ELISA) se evaluaron utilizando una prueba de inmunocoagulación comercial.

#### **Resultados: Suero grupo 1:**

Prueba	Correlación	Prevalencia	Sensibilidad	Especificidad
SERION ELISA <i>classic</i>	96,0 %	20,0 %	80,0 %	100 %
ELISA A	93,0 %	16,3 %	100 %	91,7 %
ELISA B	93,9 %	20,4 %	80,0 %	97,4 %
ELISA C	84,3 %	19,6 %	20,0 %	100 %
ELISA D	95,7 %	19,1 %	88,9 %	97,4 %

Un total de diez sueros fueron determinados como positivos. Ocho sueros fueron positivos en la prueba SERION ELISA *classic* Helicobacter pylori y los ELISA B y D. El ELISA A fue la prueba más sensible, sin embargo tres sueros quedaron en la región dudosa y no se utilizaron en el cálculo estadístico. No hubo diferencias significativas en los cálculos de prevalencia.

#### **Resultados: Suero grupo 2:**

Prueba	Correlación	Prevalencia	Sensibilidad	Especificidad
SERION ELISA <i>classic</i>	91,3 %	59,4 %	85,4 %	100 %
ELISA A	82,2 %	67,1 %	100 %	45,8 %
ELISA B	88,9 %	61,1 %	81,8 %	100 %
ELISA C	86,3 %	65,0 %	78,8 %	100 %
ELISA D	89,5 %	63,2 %	83,3 %	100 %

En los SERION ELISA *classic Helicobacter pylori IgA* y los ELISA B-D, 28 sueros recogidos secuencialmente fueron evaluados como definitivamente negativos. En el ELISA A 13 de estos sueros produjeron resultados positivos. La prevalencia indica la proporción de resultados positivos dentro de los grupos de suero. La sensibilidad calculada es menor que cuando se comparó con el ELISA de IgG. Esto es en parte debido a que la respuesta inmune de IgA se dirige principalmente frente a las proteínas CagA y ureasa B de *H.pylori* mientras que la respuesta de IgG se dirige frente al complemento de proteína completo del organismo.

Las diferencias observadas en las respuestas de anticuerpos IgG e IgA unido al hecho de que la proteína ureasa B es principalmente responsable de una unión anticuerpos no específica, es una razón probable de la correlación baja de las determinaciones de IgA y, en particular, de que la comparación de ELISA y la inmunocoagulación sea solamente posible en parte. Este estudio enfatiza la importancia de la detección de anticuerpos IgA en el diagnóstico de las infecciones por *H. pylori* y demuestra una prevalencia de 2 a 5 veces superior de anticuerpos IgA en pacientes con infección confirmada (supergrupo 2) que cuando se comparó con la población normal (suero grupo 1). No se observaron reacciones cruzadas en SERION ELISA *classic Helicobacter pylori IgA* con *Campylobacter jejuni* (se ensayaron cinco sueros). Éste también fue el caso de los ELISA B a mientras que en el ELISA A se registró un suero como positivo.

Cuando se incluyen los 146 sueros las características de funcionamiento calculadas para SERION ELISA *classic Helicobacter pylori IgA* son una sensibilidad del 84,3 % y una especificidad del 100 % con un resultado para la mejor correlación del 93,5 %. Solamente el ELISA A tuvo una sensibilidad del 100 % y esto fue a costa de una baja especificidad del 73,8 %. Los ELISA B y D son comparables a la prueba SERION ELISA *classic* con sensibilidades del 81,5 % y 84,2 % y especificidades del 98,6 % y 100 %. El ELISA C tuvo la peor sensibilidad con 69,4 % (100 % de especificidad).

#### **SERION ELISA *classic Helicobacter pylori IgM***

Para evaluar el SERION ELISA *classic Helicobacter pylori IgM* se ensayó un total de 186 muestras provenientes de adultos. El suero grupo 1 consistió en 45 sueros de donantes de sangre al azar mientras que el suero grupo 2 contenía 119 sueros con infección demostrada. Un tercer panel de suero, el suero grupo 3, consistió en seis sueros de pacientes con anticuerpos frente a *Campylobacter jejuni*, siete seropositivos para *Chlamydia spec*, tres con anticuerpos para *Borrelia burgdorferi*, tres con anticuerpos para *Legionella pneumophila*, uno con anticuerpos para *Brucella spec*. y 10 sueros con elevada actividad del factor reumatoide.

Las muestras fueron ensayadas en el SERION ELISA *classic Helicobacter pylori IgM* en comparación con dos pruebas ELISA adicionales disponibles comercialmente. Mientras que solamente se dispuso de dos pruebas comparables de ELISA de calidad adecuada y no hubo ninguna prueba de inmunocoagulación disponible, los resultados positivos se ensayaron adicionalmente en pruebas ELISA de IgG e IgA. Para determinar la sensibilidad y la especificidad, se realizó una comparación directa con la prueba comercial y SERION ELISA *classic Helicobacter pylori IgM*.

El 3,2 % de las muestras de suero (6/186) reaccionaron positivamente en al menos la prueba SERION ELISA *classic Helicobacter pylori IgM* y en otra prueba ELISA, igualmente seis de los sueros ensayados fueron del resultado dudoso en por lo menos un ELISA adicional. La literatura publicada internacionalmente indica una tasa positiva de IgM en la población general del 1 % al 11 %, que los resultados en este estudio respaldan. En total se evaluaron 98 (140) sueros como negativo en todos los ELISA (por lo menos en dos ELISA). Esto se compara con 52,7 % (75,3 %). Ninguna muestra reaccionó como positiva en las tres pruebas ELISA aunque siete reaccionaron como resultado dudoso en al menos dos ELISA (3,8 %). En total, por lo menos 59 sueros (31,7 %) reaccionaron con resultado dudoso en al menos una prueba. Teniendo en cuenta los 186 sueros, el SERION ELISA *classic Helicobacter pylori IgM* en comparación con otros dos ELISA proporcionó una sensibilidad del 100 % y comparado con el ELISA A una especificidad del 80,1 % (correlación 80,3 %) y con el ELISA B una especificidad del 75,5 % (correlación 76 %). La reducción de las sensibilidades resulta del hecho de que ninguna de las pruebas de comparación reconoció a ninguno de los sueros como positivos, de modo que establecer una comparación de sensibilidades entre estas dos pruebas es imposible. Si únicamente se incluyen los 45 sueros de donantes de sangre en los cálculos, la sensibilidad de sí la correlación resulta aproximadamente el 10 % superior. Es de destacar que los 25 sueros de donantes de sangre fueron evaluados anteriormente y designados como positivos en estudios anteriores. En 17 de 119 pacientes, se registraron resultados positivos de pruebas independientes. El ELISA A registró junto con el SERION ELISA *classic Helicobacter pylori IgM* un total de un suero positivo y el ELISA B cinco. Los anticuerpos IgM están acompañados frecuentemente por anticuerpos IgG.

## 9.2 Reproducibilidad

La reproducibilidad intraensayo se determinó mediante ensayo de sueros de diferentes reactividades 20 veces en una carga de pruebas. La reproducibilidad interensayo se determinó mediante ensayo de sueros de diferentes reactividades 10 veces en 10 ensayos independientes realizados en 5 días diferentes.

$$\text{Coeficiente de variación (CV \%)} = \frac{\text{Desviación típica}}{\text{Valor de la media}} \times 100$$

### SERION ELISA *classic* Helicobacter pylori IgA:

Muestra	Valor de la media (DO)	Intraensayo (CV %)	Valor de la media (DO)	Interensayo (CV %)
negativo	0,499	3,4	0,467	9,9
dudoso	0,627	4,6	0,580	10,0
fuertemente positivo	1,263	3,6	1,286	7,7

### SERION ELISA *classic* Helicobacter pylori IgG:

Muestra	Valor de la media (DO)	Intraensayo (CV %)	Valor de la media (DO)	Interensayo (CV %)
dudoso	0,442	4,5	0,423	13,8
fuertemente positivo	1,513	2,4	1,514	11,0
fuertemente positivo	1,615	3,1	1,599	9,8

### SERION ELISA *classic* Helicobacter pylori IgM:


Muestra	Valor de la media (DO)	Intraensayo (CV %)	Valor de la media (DO)	Interensayo (CV %)
dudoso	0,342	5,8	0,346	13,0
dudoso	0,371	4,7	0,385	9,9
positivo	0,658	5,5	0,661	9,2

## 10 MEDIDAS DE SEGURIDAD

### 10.1 Declaraciones de advertencia

El SERION ELISA *classic* está diseñado para ser utilizado por personal cualificado y familiarizado con las buenas prácticas de laboratorio.

Todos los reactivos del kit y las muestras humanas deben manipularse con cuidado, de acuerdo a la buena práctica de laboratorio establecida.

- Este kit contiene componentes de sangre humana. Aunque todos los sueros de control y de corte han sido analizados y el resultado ha sido negativo para anti-HIV-ab (anticuerpo anti VIH), HBs-Ag (*antígeno de superficie del virus de hepatitis B*) y anti-HCV-ab (anticuerpo anti VHC), se deberán considerar como potencialmente infecciosos.
- No pipetear con la boca.
- No fume, coma ni beba en zonas en las que se manipulen muestras o reactivos del kit.
- Utilice guantes desechables, bata de laboratorio y gafas de seguridad mientras manipula reactivos del kit o muestras. Lávese las manos a fondo después.
- El material del paciente y demás material potencialmente infeccioso se debe descontaminar después de la ejecución de la prueba.
- Los reactivos se deben conservar de modo seguro y deben ser inaccesibles a un acceso no autorizado p.ej., niños.
- Solución de parada:  corrosivo (C); produce quemadura ácida (R34)

¡Utilice gafas de seguridad, guantes y bata de laboratorio al manipular!

### 10.2 Eliminación


Cumpla con los requisitos reglamentarios pertinentes.

## 11 BIBLIOGRAFÍA

- [1] Blaser, M. J. (1998) *Helicobacter pylori* and associated diseases. *BMJ* 316, 1507-10.
- [2] Heilmann, K. L., Borchard, F. (1991) Gastritis due to spiral shaped bacteria other than *Helicobacter pylori*: clinical, histological and ultrastructural findings. *GUT* 32, 137-40.
- [3] Kosunen, T. U. *et al.* (1992) Diagnostic value of decreasing IgG, IgA and IgM antibody titres after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 339, 893-95.
- [4] Malferteiner, P. (1996) *Helicobacter pylori* – Von der Grundlage zur Therapie Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 2. Auflage, 11-23.
- [5] Malferteiner, P. *et al.* (1997) Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht Consensus Report. *Eur. J. Gastroent. Hep.* 9, 1-2.
- [6] Malferteiner, P. *et al.* (1998) *Helicobacter pylori* Infektionen und Ulkuserkrankungen. *Chirurg* 69, 239-48.
- [7] Malferteiner, P. (2004) *Helicobacter pylori* Infection – ein Update 2004. *Deutsch-Medizinische Wochenschrift* 129, 1821-6.
- [8] The European *Helicobacter pylori* Study Group (EHPSG, 1997): Current European concepts in the Management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht Consensus Report. *Gut* 41, 8-13.
- [9] Warren, J. R., Marshall, B. (1983) Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1, 1273-5.
- [10] Xiang, Z., *et al.* (1995) Analysis of expression of *cagA* and *vacA* virulence factors in 43 strains of *Helicobacter pylori* reveals that clinical isolates can be divided into two major types and that *cagA* is not necessary for expression of the vacuolating cytotoxin. *Infect Immun* 63, 94.
- [11] Yamaoka, Y. *et al.* (1999) Antibody against *Helicobacter pylori* CagA and VacA and the risk for gastric cancer. *J. Clin. Pathol.* 52, 215-8.


# ANEXO N° 04

## CERTIFICADO DE CONTROL DE CALIDAD

SERION ELISA classic ESR118G		HELICOBACTER PYLORI IgG		SAF.DQ
Qualitätskontrollzertifikat / Quality Control Certificate				
Kitcharge / Lot	SAF.DQ	02.02.2015		
Verw. Bis / Exp.	2016-09	Prüfdatum / Date of control		
Verwendete Reagenzien / Reagents used	Lot	Standard	Standard Kurve / Standard curve	
Teststreifen / Antigen coated strips	SIE.BX	Ref. Werte / Ref. Values	Parameter A -0,011	
Standardserum / Standard serum	SKE.AV	OD 0,90	B 0,956	
Negativ Kontrolle / Negative control	SKE.AT	Gültigkeitsbereich / Validity Range	C 4,478	
Konjugat / Conjugate	SLE.BT++	Units 98,8 U/ml	D 1,716	
Quantifizierungsgrenzen / Limits of quantification		U/ml 5 - 500		
Grenzwertbereich / Borderline range		U/ml 35 - 50		
OD Bereich / OD Range 405 nm, Standardserum / Standard serum				
0,45 - 0,50	0,51 - 0,55	0,56 - 0,61	0,62 - 0,67	0,68 - 0,72
0,73 - 0,78	0,79 - 0,83	0,84 - 0,89	0,90	U/ml
0,91 - 0,95	0,96 - 1,00	1,01 - 1,05	1,06 - 1,10	1,11 - 1,15
1,16 - 1,20	1,21 - 1,25	1,26 - 1,30	1,31 - 1,35	1,36 - 1,40
1,41 - 1,45	1,46 - 1,50	1,51 - 1,55	1,56 - 1,60	1,61 - 1,65
1,66 - 1,70	1,71 - 1,75	1,76 - 1,80	1,81 - 1,85	1,86 - 1,90
1,91 - 1,95	1,96 - 2,00	2,01 - 2,05	2,06 - 2,10	2,11 - 2,15
2,16 - 2,20	2,21 - 2,25	2,26 - 2,30	2,31 - 2,35	2,36 - 2,40
2,41 - 2,45	2,46 - 2,50	2,51 - 2,55	2,56 - 2,60	2,61 - 2,65
2,66 - 2,70	2,71 - 2,75	2,76 - 2,80	2,81 - 2,85	2,86 - 2,90
2,91 - 2,95	2,96 - 3,00	3,01 - 3,05	3,06 - 3,10	3,11 - 3,15
3,16 - 3,20	3,21 - 3,25	3,26 - 3,30	3,31 - 3,35	3,36 - 3,40
3,41 - 3,45	3,46 - 3,50	3,51 - 3,55	3,56 - 3,60	3,61 - 3,65
3,66 - 3,70	3,71 - 3,75	3,76 - 3,80	3,81 - 3,85	3,86 - 3,90
3,91 - 3,95	3,96 - 4,00	4,01 - 4,05	4,06 - 4,10	4,11 - 4,15
4,16 - 4,20	4,21 - 4,25	4,26 - 4,30	4,31 - 4,35	4,36 - 4,40
4,41 - 4,45	4,46 - 4,50	4,51 - 4,55	4,56 - 4,60	4,61 - 4,65
4,66 - 4,70	4,71 - 4,75	4,76 - 4,80	4,81 - 4,85	4,86 - 4,90
4,91 - 4,95	4,96 - 5,00	5,01 - 5,05	5,06 - 5,10	5,11 - 5,15
5,16 - 5,20	5,21 - 5,25	5,26 - 5,30	5,31 - 5,35	5,36 - 5,40
5,41 - 5,45	5,46 - 5,50	5,51 - 5,55	5,56 - 5,60	5,61 - 5,65
5,66 - 5,70	5,71 - 5,75	5,76 - 5,80	5,81 - 5,85	5,86 - 5,90
5,91 - 5,95	5,96 - 6,00	6,01 - 6,05	6,06 - 6,10	6,11 - 6,15
6,16 - 6,20	6,21 - 6,25	6,26 - 6,30	6,31 - 6,35	6,36 - 6,40
6,41 - 6,45	6,46 - 6,50	6,51 - 6,55	6,56 - 6,60	6,61 - 6,65
6,66 - 6,70	6,71 - 6,75	6,76 - 6,80	6,81 - 6,85	6,86 - 6,90
6,91 - 6,95	6,96 - 7,00	7,01 - 7,05	7,06 - 7,10	7,11 - 7,15
7,16 - 7,20	7,21 - 7,25	7,26 - 7,30	7,31 - 7,35	7,36 - 7,40
7,41 - 7,45	7,46 - 7,50	7,51 - 7,55	7,56 - 7,60	7,61 - 7,65
7,66 - 7,70	7,71 - 7,75	7,76 - 7,80	7,81 - 7,85	7,86 - 7,90
7,91 - 7,95	7,96 - 8,00	8,01 - 8,05	8,06 - 8,10	8,11 - 8,15
8,16 - 8,20	8,21 - 8,25	8,26 - 8,30	8,31 - 8,35	8,36 - 8,40
8,41 - 8,45	8,46 - 8,50	8,51 - 8,55	8,56 - 8,60	8,61 - 8,65
8,66 - 8,70	8,71 - 8,75	8,76 - 8,80	8,81 - 8,85	8,86 - 8,90
8,91 - 8,95	8,96 - 9,00	9,01 - 9,05	9,06 - 9,10	9,11 - 9,15
9,16 - 9,20	9,21 - 9,25	9,26 - 9,30	9,31 - 9,35	9,36 - 9,40
9,41 - 9,45	9,46 - 9,50	9,51 - 9,55	9,56 - 9,60	9,61 - 9,65
9,66 - 9,70	9,71 - 9,75	9,76 - 9,80	9,81 - 9,85	9,86 - 9,90
9,91 - 9,95	9,96 - 10,00	10,01 - 10,05	10,06 - 10,10	10,11 - 10,15
10,16 - 10,20	10,21 - 10,25	10,26 - 10,30	10,31 - 10,35	10,36 - 10,40
10,41 - 10,45	10,46 - 10,50	10,51 - 10,55	10,56 - 10,60	10,61 - 10,65
10,66 - 10,70	10,71 - 10,75	10,76 - 10,80	10,81 - 10,85	10,86 - 10,90
10,91 - 10,95	10,96 - 11,00	11,01 - 11,05	11,06 - 11,10	11,11 - 11,15
11,16 - 11,20	11,21 - 11,25	11,26 - 11,30	11,31 - 11,35	11,36 - 11,40
11,41 - 11,45	11,46 - 11,50	11,51 - 11,55	11,56 - 11,60	11,61 - 11,65
11,66 - 11,70	11,71 - 11,75	11,76 - 11,80	11,81 - 11,85	11,86 - 11,90
11,91 - 11,95	11,96 - 12,00	12,01 - 12,05	12,06 - 12,10	12,11 - 12,15
12,16 - 12,20	12,21 - 12,25	12,26 - 12,30	12,31 - 12,35	12,36 - 12,40
12,41 - 12,45	12,46 - 12,50	12,51 - 12,55	12,56 - 12,60	12,61 - 12,65
12,66 - 12,70	12,71 - 12,75	12,76 - 12,80	12,81 - 12,85	12,86 - 12,90
12,91 - 12,95	12,96 - 13,00	13,01 - 13,05	13,06 - 13,10	13,11 - 13,15
13,16 - 13,20	13,21 - 13,25	13,26 - 13,30	13,31 - 13,35	13,36 - 13,40
13,41 - 13,45	13,46 - 13,50	13,51 - 13,55	13,56 - 13,60	13,61 - 13,65
13,66 - 13,70	13,71 - 13,75	13,76 - 13,80	13,81 - 13,85	13,86 - 13,90
13,91 - 13,95	13,96 - 14,00	14,01 - 14,05	14,06 - 14,10	14,11 - 14,15
14,16 - 14,20	14,21 - 14,25	14,26 - 14,30	14,31 - 14,35	14,36 - 14,40
14,41 - 14,45	14,46 - 14,50	14,51 - 14,55	14,56 - 14,60	14,61 - 14,65
14,66 - 14,70	14,71 - 14,75	14,76 - 14,80	14,81 - 14,85	14,86 - 14,90
14,91 - 14,95	14,96 - 15,00	15,01 - 15,05	15,06 - 15,10	15,11 - 15,15
15,16 - 15,20	15,21 - 15,25	15,26 - 15,30	15,31 - 15,35	15,36 - 15,40
15,41 - 15,45	15,46 - 15,50	15,51 - 15,55	15,56 - 15,60	15,61 - 15,65
15,66 - 15,70	15,71 - 15,75	15,76 - 15,80	15,81 - 15,85	15,86 - 15,90
15,91 - 15,95	15,96 - 16,00	16,01 - 16,05	16,06 - 16,10	16,11 - 16,15
16,16 - 16,20	16,21 - 16,25	16,26 - 16,30	16,31 - 16,35	16,36 - 16,40
16,41 - 16,45	16,46 - 16,50	16,51 - 16,55	16,56 - 16,60	16,61 - 16,65
16,66 - 16,70	16,71 - 16,75	16,76 - 16,80	16,81 - 16,85	16,86 - 16,90
16,91 - 16,95	16,96 - 17,00	17,01 - 17,05	17,06 - 17,10	17,11 - 17,15
17,16 - 17,20	17,21 - 17,25	17,26 - 17,30	17,31 - 17,35	17,36 - 17,40
17,41 - 17,45	17,46 - 17,50	17,51 - 17,55	17,56 - 17,60	17,61 - 17,65
17,66 - 17,70	17,71 - 17,75	17,76 - 17,80	17,81 - 17,85	17,86 - 17,90
17,91 - 17,95	17,96 - 18,00	18,01 - 18,05	18,06 - 18,10	18,11 - 18,15
18,16 - 18,20	18,21 - 18,25	18,26 - 18,30	18,31 - 18,35	18,36 - 18,40
18,41 - 18,45	18,46 - 18,50	18,51 - 18,55	18,56 - 18,60	18,61 - 18,65
18,66 - 18,70	18,71 - 18,75	18,76 - 18,80	18,81 - 18,85	18,86 - 18,90
18,91 - 18,95	18,96 - 19,00	19,01 - 19,05	19,06 - 19,10	19,11 - 19,15
19,16 - 19,20	19,21 - 19,25	19,26 - 19,30	19,31 - 19,35	19,36 - 19,40
19,41 - 19,45	19,46 - 19,50	19,51 - 19,55	19,56 - 19,60	19,61 - 19,65
19,66 - 19,70	19,71 - 19,75	19,76 - 19,80	19,81 - 19,85	19,86 - 19,90
19,91 - 19,95	19,96 - 20,00	20,01 - 20,05	20,06 - 20,10	20,11 - 20,15
20,16 - 20,20	20,21 - 20,25	20,26 - 20,30	20,31 - 20,35	20,36 - 20,40
20,41 - 20,45	20,46 - 20,50	20,51 - 20,55	20,56 - 20,60	20,61 - 20,65
20,66 - 20,70	20,71 - 20,75	20,76 - 20,80	20,81 - 20,85	20,86 - 20,90
20,91 - 20,95	20,96 - 21,00	21,01 - 21,05	21,06 - 21,10	21,11 - 21,15
21,16 - 21,20	21,21 - 21,25	21,26 - 21,30	21,31 - 21,35	21,36 - 21,40
21,41 - 21,45	21,46 - 21,50	21,51 - 21,55	21,56 - 21,60	21,61 - 21,65
21,66 - 21,70	21,71 - 21,75	21,76 - 21,80	21,81 - 21,85	21,86 - 21,90
21,91 - 21,95	21,96 - 22,00	22,01 - 22,05	22,06 - 22,10	22,11 - 22,15
22,16 - 22,20	22,21 - 22,25	22,26 - 22,30	22,31 - 22,35	22,36 - 22,40
22,41 - 22,45	22,46 - 22,50	22,51 - 22,55	22,56 - 22,60	22,61 - 22,65
22,66 - 22,70	22,71 - 22,75	22,76 - 22,80	22,81 - 22,85	22,86 - 22,90
22,91 - 22,95	22,96 - 23,00	23,01 - 23,05	23,06 - 23,10	23,11 - 23,15
23,16 - 23,20	23,21 - 23,25	23,26 - 23,30	23,31 - 23,35	23,36 - 23,40
23,41 - 23,45	23,46 - 23,50	23,51 - 23,55	23,56 - 23,60	23,61 - 23,65
23,66 - 23,70	23,71 - 23,75	23,76 - 23,80	23,81 - 23,85	23,86 - 23,90
23,91 - 23,95	23,96 - 24,00	24,01 - 24,05	24,06 - 24,10	24,11 - 24,15
24,16 - 24,20	24,21 - 24,25	24,26 - 24,30	24,31 - 24,35	24,36 - 24,40
24,41 - 24,45	24,46 - 24,50	24,51 - 24,55	24,56 - 24,60	24,61 - 24,65
24,66 - 24,70	24,71 - 24,75	24,76 - 24,80	24,81 - 24,85	24,86 - 24,90
24,91 - 24,95	24,96 - 25,00	25,01 - 25,05	25,06 - 25,10	25,11 - 25,15
25,16 - 25,20	25,21 - 25,25	25,26 - 25,30	25,31 - 25,35	25,36 - 25,40
25,41 - 25,45	25,46 - 25,50	25,51 - 25,55	25,56 - 25,60	25,61 - 25,65
25,66 - 25,70	25,71 - 25,75	25,76 - 25,80	25,81 - 25,85	25,86 - 25,90
25,91 - 25,95	25,96 - 26,00	26,01 - 26,05	26,06 - 26,10	26,11 - 26,15
26,16 - 26,20	26,21 - 26,25	26,26 - 26,30	26,31 - 26,35	26,36 - 26,40
26,41 - 26,45	26,46 - 26,50	26,51 - 26,55	26,56 - 26,60	26,61 - 26,65
26,66 - 26,70	26,71 - 26,75	26,76 - 26,80	26,81 - 26,85	26,86 - 26,90
26,91 - 26,95	26,96 - 27,00	27,01 - 27,05	27,06 - 27,10	27,11 - 27,15
27,16 - 27,20	27,21 - 27,25	27,26 - 27,30	27,31 - 27,35	27,36 - 27,40
27,41 - 27,45	27,46 - 27,50	27,51 - 27,55	27,56 - 27,60	27,61 - 27,65
27,66 - 27,70	27,71 - 27,75	27,76 - 27,80	27,81 - 27,85	27,86 - 27,90
27,91 - 27,95	27,96 - 28,00	28,01 - 28,05	28,06 - 28,10	28,11 - 28,15
28,16 - 28,20	28,21 - 28,25	28,26 - 28,30	28,31 - 28,35	28,36 - 28,40
28,41 - 28,45	28,46 - 28,50	28,51 - 28,55	28,56 - 28,60	28,61 - 28,65
28,66 - 28,70	28,71 - 28,75	28,76 - 28,80	28,81 - 28,85	28,86 - 28,90
28,91 - 28,95	28,96 - 29,00	29,01 - 29,05	29,06 - 29,10	29,11 - 29,15
29,16 - 29,20	29,21 - 29,25	29,26 - 29,30	29,31 - 29,35	29,36 - 29,40
29,41 - 29,45	29,46 - 29,50	29,51 - 29,55	29,56 - 29,60	29,61 - 29,65
29,66 - 29,70	29,71 - 29,75	29,76 - 29,80	29,81 - 29,85	29,86 - 29,90
29,91 - 29,95	29,96 - 30,00	30,01 - 30,05	30,06 - 30,10	30,11 - 30,15
30,16 - 30,20	30,21 - 30,25	30,26 - 30,30	30,31 - 30,35	30,36 - 30,40
30,41 - 30,45	30,46 - 30,50	30,51 - 30,55	30,56 - 30,60	30,61 - 30,65
30,66 - 30,70	30,71 - 30,75	30,76 - 30,80	30,81 - 30,85	30,86 - 30,90
30,91 - 30,95	30,96 - 31,00	31,01 - 31,05	31,06 - 31,10	31,11 - 31,15
31,16 - 31,20	31,21 - 31,25	31,26 - 31,30	31,31 - 31,35	31,36 - 31,40
31,41 - 31,45	31			



ANEXO N° 05  
SOFTWARE DE MICROSOFT® EXCEL VIRION SERION

	<b>VIRION SERION</b>		<b>LOTE:</b>	
	<b>EST:</b>		<b>UNIT: U/mL</b>	

**\*\*\*\*\***

Parametros	
A	
B	
C	
D	
REF. VALUE (STD)	
VH (STD)	
VL (STD)	
LIMITE Q. INF	
LIMITE Q. SUP	

Blanco	
Negativos <	
Positivos >	

Validación del Test				
STD_1				
STD_2				

ID	DO	DO - BL	Concentración	Estado
C_NEGATIVO				
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
#				
#				
#				
#				
#				
#				
COMPROBACION				